

**UNTERSUCHUNGEN ÜBER VCA-ANTIKÖRPER DER
IgG- UND DER IgM-KLASSE
GEGEN DAS EPSTEIN-BARR-VIRUS
BEI MENSCHLICHEN TUMOREN**

Sigrid Seidel

1977

Digitized by the Internet Archive
in 2026





Aus der Kinderklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Klaus Betke

UNTERSUCHUNGEN ÜBER VCA-ANTIKÖRPER DER IgG-
UND DER IgM-KLASSE GEGEN DAS EPSTEIN - BARR-
VIRUS BEI MENSCHLICHEN TUMOREN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Sigrid Seidel
aus
Ingelheim
im Jahre

1977

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. Otmar Goetz
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Klaus Betke
Dekan:	Prof. Dr. Wolfgang Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	25.10.1977

G L I E D E R U N G

1. Einleitung und Fragestellung
 - 1.1. Die Entdeckung des EB-Virus
 - 1.2. Das EB-Virus als onkogenes Virus
2. Überblick über die Literatur
 - 2.1. Infektiöse Mononucleose und die normale Durchseuchung durch das EB-Virus
 - 2.2. Burkitt Lymphom und EB-Virus
 - 2.3. Nasopharyngeal Carcinom und EB-Virus
 - 2.4. EB-Virus bei der Lymphogranulomatose
 - 2.5. Die Beziehung des EB-Virus zu Leukämien
 - 2.6. Die Beziehung des EB-Virus zu Lymphomen und anderen Erkrankungen
 - 2.7. Untersuchungen über IgM-Antikörper
3. Eigene Untersuchungen: Material und Methoden
 - 3.1. Methoden
 - 3.1.1. Zellausstriche
 - 3.1.2. Bestimmung der IgG-VCA-Antikörper gegen das EB-Virus
 - 3.1.3. Bestimmung der IgM-VCA-Antikörper gegen das EB-Virus
 - 3.1.4. Beurteilung der Fluoreszenz
 - 3.1.5. Spezifität des IgM-Tests
 - 3.1.6. Auftrennung der Seren mit Säulenchromatographie
 - 3.2. Krankengut
 - 3.2.1. Patienten mit malignen Erkrankungen
 - 3.2.2. Kontrollgruppe
4. Ergebnisse
 - 4.1. Normale Durchseuchung mit EB-Virus
 - 4.2. IgG-VCA-Antikörper gegen das EB-Virus bei Patienten mit malignen Erkrankungen im Vergleich zu den Kontrollgruppen
 - 4.2.1. Ergebnisse in der Kindergruppe
 - 4.2.2. Ergebnisse in der Erwachsenenengruppe
 - 4.2.3. Statistische Berechnungen
 - 4.3. Ergebnisse des IgM-Antikörperrnachweises
5. Diskussion der Ergebnisse
6. Zusammenfassung
7. Literaturnachweis

1. Einleitung

1.1. Die Entdeckung des Epstein-Barr-Virus.

Schon 1962 wurde das Burkitt-Lymphom wegen seiner endemischen Verbreitung in bestimmten klimatischen Zonen von Burkitt mit einem Virus in Zusammenhang gebracht (9,10). Doch im Biopsiematerial von Burkitt-Lymphomen konnte kein Virus elektronenmikroskopisch entdeckt werden (21,22). Ebenso versagten andere virologische Standardmethoden, wie verschiedene Gewebekultursysteme und Verimpfung in Tiere (26). Erst als es 1964 EPSTEIN und BARR gelungen war, Burkitt-Lymphoblasten in vitro zu kultivieren (23), war die Suche mit dem Elektronenmikroskop erfolgreich (1,25). Die Viruspartikel ließen sich morphologisch in die Herpes-Virus - Gruppe einordnen (24), andere virologische Untersuchungen ergaben nur, daß dieses Virus keinerlei biologische Aktivität zeigte und damit den bekannten Herpes - Viren völlig unähnlich war (26,102,108,119). Die immunologischen Eigenschaften des unbekannten Virus wurden 1966 von HENLE W. und HENLE G. untersucht (51,52). Im indirekten Immuno-Fluoreszenztest konnte gezeigt werden, daß Antiseren gegen die bekannten Herpes - Viren nicht mit Zellen reagierten, die das EB-Virus beherbergten. Andererseits ergaben Seren von Burkitt-Lymphom-Patienten und auch von normalen Personen eine positive Fluoreszenz, mit EB-Virus infizierten Zellen, jedoch keine Kreuzreaktion mit den bekannten Herpes-Viren. Die immunologischen Studien ergaben schließlich, daß ein neuer Vertreter der Herpes-Virus-Gruppe gefunden worden war mit ganz spezifischen Antigen-Merkmalen (39,64), das Epstein-Barr-Virus.

1.2. EB-Virus als onkogenes Virus.

Obwohl das EB-Virus auf gewöhnlichen Gewebekulturen nicht wuchs, konnte es in vitro auf verschiedene Zellen des hämatopoetischen Systems übertragen werden und regte in der Kultur auch periphere Lymphozyten von gesunden Spendern zu unbegrenztem Wachstum an (56,106). Eine begrenzte Lympho-

proliferation verursacht das EB - Virus in vivo bei der infektiösen Mononucleose (57,96). Außerdem induziert das EB-Virus in vitro eine spezifische Chromosomenaberration am langen Arm des Chromosom 10 (68,78,79).

Die Parallelen, die man zu onkogenen tierischen Herpes - Viren ziehen kann, geben dem EB-Virus neue Aspekte. Das Herpes-Virus, welches in der Froschniere ein Karzinom verursacht (94), hat ein gemeinsames Antigen mit dem EB-Virus (30). Herpes Saimiri bewirkt bei Affen einen malignen Tumor des lymphoretikulären Systems (91). Ähnlich wie das EB-Virus ist das Herpes-Virus, das die Marek'sche Krankheit beim Huhn verursacht, weit verbreitet, entfaltet jedoch seine onkogene Wirkung nur unter bestimmten Bedingungen (6,15), die noch wenig erforscht sind. EB-Virus-infizierte Lymphoblasten rufen bei Heterotransplantation in immunsuppressiv behandelte Tiere invasiv wachsende Tumore hervor (20,116).

Die Hinweise für die Beteiligung des EB-Virus bei verschiedenen menschlichen malignen Erkrankungen häufen sich. Da der direkte Beweis für das onkogene Potential des EB-Virus unmöglich zu führen ist, muß man sich auch weiterhin auf das Sammeln von Indizien beschränken. Ein weiteres Indiz in der Beweiskette könnte der Nachweis von IgM-Antikörpern gegen das EB-Virus sein, die auf einen andauernden Antigenstimulus schließen lassen könnten (4).

In der vorliegenden Arbeit wird versucht, den Nachweis von IgM-Antikörpern gegen das EB-Virus bei verschiedenen Tumoren zu erbringen. Außerdem wird das Vorkommen von IgG-Antikörpern bei Tumorpatienten verglichen mit der normalen Durchseuchung durch das EB-Virus im Münchner Raum.

2.1. Infektiöse Mononucleose (IM) und die normale Durchseuchung durch das EB-Virus.

Die Reaktion des Körpers auf das EB-Virus hängt in erster Linie vom Alter ab. Im Alter von 1 bis 5 Jahren bewirkt der Kontakt mit dem EB-Virus meist eine " stille Feiung " (57). Bei Kindern, die in weniger hygienischen Verhältnissen leben, speziell in den Tropen, liegt die Primärinfektion gewöhnlich in diesem Alter. Unter Studenten in Ost - Afrika ist daher die klinische IM unbekannt (58). Im Alter von 5 bis 15 Jahren verläuft die Infektion mitunter in Form einer milden Tonsillitis und Pharyngitis, die heterophilen Antikörper sind oft nicht nachweisbar (54). Wenn die Primärinfektion ins junge Erwachsenenalter fällt, tritt die typische IM auf, was hauptsächlich in sozial und wirtschaftlich höher gestellten Schichten vorkommt (27). Antikörper gegen das EB - Virus erscheinen dabei während der Krankheit, bleiben nach der Genesung vorhanden und erzeugen Immunität (105,123), wobei die Patienten vorher antikörpernegativ waren (57,96). Das EB-Virus ist in Lymphozytenkulturen von IM-Patienten vorhanden, macht wahrscheinlich erst die in vitro Proliferation möglich (19). Bekannt ist außerdem die Übertragung der IM durch Bluttransfusionen (7,35,60) und auch eine direkte Übertragung (40).

Die altersabhängige Durchseuchung mit dem EB-Virus, wie sie am Vorkommen von Antikörpern gegen Virus Capsid Antigen (VCA) abgelesen werden kann, wurde vielfach untersucht (29,58,107,123,105). Neugeborene haben EBV- Antikörper mütterlichen Ursprungs, die während der ersten 6 bis 12 Lebensmonate verschwinden (53). In niedrigeren sozialen Schichten werden 60 - 80 % der Kinder seropositiv bis zur Pubertät (53,123), in höheren Schichten 30-50% (29,58); im Erwachsenenalter findet man bei bis zu 90 % der gesunden Bevölkerung VCA-Antikörper gegen EB-Virus (105,107).

2.2. Burkitt-Lymphom und EB-Virus

Die Indizien, die auf eine kausale Rolle des EB-Virus bei der Entstehung des Burkitt-Lymphoms (BL) hinweisen, sind zahlreich. Gegen eine Vielzahl von Antigenen, die in Lymphoblasten-Kulturen aus Burkitt-Tumoren identifiziert wurden, zeigen BL-Patienten erhöhte Antikörperspiegel. Es handelt sich um

- (1) Virus Capsid Antigen (VCA) (51,58),
- (2) Membran Antigen (MA) (44,73,75),
- (3) Early Antigen (EA) (60),
- (4) im Kern befindliches Antigen (EB nuclear Antigen: EBNA) (86),
- (5) lösliche Antigene mit precipitierenden Antikörpern (103,104) und
- (6) komplementbindende Antigene (3,34).

VCA-Antikörper sind bei afrikanischen Patienten mit BL grundsätzlich in hohen Titern vorhanden. Bei fast 200 untersuchten Fällen findet man stets VCA-Antikörper, bei 85% sogar in hohen Titern ($\geq 1:160$) mit einem geometrischen Durchschnittstitel (GMT) von über 1: 320 (44,58). Die entsprechende Kontrollgruppe hat in 18 % keine EBV-Antikörper und erreicht nur einen GMT von 1 : 40.

In frischem Biopsiematerial läßt sich durch Nukleinsäure Hybridisation virale DNS nachweisen (47). Durch bestimmte Reagenzien (z.B. BUdR = 5-Bromodeoxyuridin) läßt sich die Produktion von Virus-Partikeln auch in jenen Zellkulturen anregen, die vorher sogenannte "non-producer" waren (33,46), d.h. alle Zellen scheinen das Virus-Genom zu beherbergen. Insbesondere spricht für eine ätiologische Beteiligung des EB-Virus, daß man die Antikörperspiegel gegen VCA, MA und EA zum klinischen Bild in Beziehung setzen kann und daraus Prognosen für die Überlebenszeit ableiten kann (61,74).

Ungeklärt ist noch, weshalb sich in den histologisch nicht unterscheidbaren amerikanischen Fällen von Burkitt-Lymphom, die sporadisch vorkommen, nicht solche eindeutigen Beziehun-

gen zum EB-Virus zeigen. Diese Patienten haben nur in 2/3 der Fälle EBV-Antikörper und dann auch um durchschnittlich 4 Verdünnungen geringer als die gleichzeitig getesteten afrikanischen Seren (66).

Da trotz der weltweiten Verbreitung von EBV-Infektionen das Burkitt-Lymphom außerhalb der tropischen Gebiete Afrikas, Neu-Guineas und Papuas (121,128) nur sehr selten vorkommt, müssen zusätzliche Faktoren an der Entstehung beteiligt sein. Als ein Co-Faktor wird die Immunsuppression durch holoendemische Malaria diskutiert (101).

2.3. Nasopharyngeal Carcinom und EB-Virus

Beim Nasopharyngeal Carcinom (NPC) treffen wir ähnliche Verhältnisse an wie beim Burkitt-Lymphom. NPC Seren haben hohe Antikörper-Titer gegen MA und VCA (114). Sowohl bei anti-EA als auch bei anti-VCA zeigen Seren von NPC Patienten steigende Titer in den Stadien I bis V der Krankheit, dagegen findet man bei Langzeit-Überlebenden deutlich niedrigere Titer als bei unbehandelten Patienten (59,62,114). EB-Virus DNA läßt sich in NPC Biopsien und auch in Kulturen aus Tumorzellen nachweisen (69,76,99). Mit Ausnahme der Epithelzellen aus Nasopharyngeal Carcinomen (127), beschränkt sich das Vorkommen des EB-Virus auf Lymphocyten vom B-Typ (77).

Die Epidemiologie des NPC weist auf genetische Faktoren hin, dieses Carcinom befällt hauptsächlich Chinesen, Kaukasier und Tunesier (11,48,67). DE THE und GESER (122) stellen drei Hypothesen auf über die ätiologische Beteiligung des EB-Virus am NPC:

- (1) Das EB-Virus ist als Passagier-Parasit im Tumor vorhanden, der durch Umgebungsfaktoren auf der Basis einer gewissen genetischen Empfänglichkeit für chemische Carcinogene induziert wird.
- (2) Das EB-Virus ist ein notwendiger und hinreichender Faktor für die Entwicklung des NPC.

- (3) Das EB-Virus ist einer der ätiologischen Faktoren, der zusammenwirkt mit inneren genetischen oder äußeren Umgebungs-Faktoren.

Im Zusammenhang mit der letzten Hypothese ist die Entdeckung von RNA-Sequenzen des Rauscher-Leukämie-Virus in BL und NPC Biopsien von Bedeutung (80). Damit kommt ein weiteres onkogenes Virus ins Spiel. Die Rolle des bloßen Passagiers in den Tumorzellen wird unwahrscheinlich, wenn man Daten von NPC Patienten und von Patienten mit Carcinomen der Tonsillen und des übrigen HNO-Bereiches miteinander vergleicht (59). 100 % der NPC Patienten haben VCA-Antikörper, davon 84 % in Titern $\geq 1 : 160$, gegenüber 88 % der übrigen Patienten, wobei nur 14 % Titer $\geq 1 : 160$ erreichen. Der GMT der NPC Patienten liegt bei $1 : 348$ gegenüber $1 : 41$ in der anderen Gruppe.

2.4. EB-Virus bei Lymphogranulomatose

Zwei Gesichtspunkte kennzeichnen die Epidemiologie des M. Hodgkin. In den Entwicklungsländern Afrikas befällt die Erkrankung hauptsächlich Kinder vom 4. Lebensjahr an (18). In den Industriestaaten verläuft die Erkrankungskurve mit zwei Altersgipfeln, einer betrifft die jungen Erwachsenen zwischen 15 und 35 Jahren, der andere betrifft ältere Patienten von 50 und mehr Jahren (90). Diese Tatsachen weisen für die jüngere Personengruppe auf ein infektiöses Agens mit langer Inkubationszeit und geringer Kontagiosität hin, während der Erkrankung im höheren Lebensalter eine andere Ätiologie zugrunde liegen könnte. Kommt nun das EB-Virus als dieses infektiöse Agens in Frage ?

Bei Lymphogranulomatose Patienten ist der Anteil derer mit erhöhtem Antikörper-Titer gegen Virus Capsid Antigen des EB-Virus erheblich größer als bei Kontrollpersonen (13,55,70,84), in dessen zeigt nicht jeder Patient Antikörper gegen VCA;

12 % eines großen Kollektivs von 489 Patienten waren antikörper-negativ (55). Eine Studie (37) kommt bei 57 M. Hodgkin Patienten zu einem Ergebnis, das den Durchseuchungsverhältnissen bei Ge-sunden entspricht.

Tabelle 1 zeigt eine Zusammenstellung von 5 Studien an M.Hodgkin-Patienten. Die Titer, die als "erhöht" angesehen werden, schwanken je nach Versuchsbedingungen und stellen Erfahrungswerte dar. So muß auch der GMT nur in Bezug auf den GMT der dazugehörigen Kontrollgruppe gesehen werden:

Tab. 1.: Ergebnisse von 5 Arbeiten über M. Hodgkin-Patienten.
Serologische Reaktivität gegen EBV aufgezeigt am
Prozentsatz erhöhter Titer und am GMT.

Autor	Zell-stamm	Anzahl Patien-ten	Anzahl bzw. % seropositiv 1 : 10	% mit erhöhtem Titer	GMT	GMT Kontrollgruppe
Carvalho et al.(13)	Jijoye	44	43	42 (≥1:320)	1:173	1:51
Levine et al.(84)	HRIK	63	Nicht angegeben	35 (≥1:640)	1:367	1:91
Johansson et al.(70)	EB3	60	57	47 (≥1:160)	1:100	1:43
Henle W.and Henle G.(55)	EB3	489	86%	40 (≥1:160)	1:110	1:55
Goldmann and Aisenberg (37)	EB3	57	33	12 (≥1:160)	Nicht angegeben	

HENLE (55) stellt eine Hypothese auf, die das Vorkommen von sero-negativen Fällen erklären würde: Die erhöhten Titer entstehen durch die immunsuppressive Wirkung der Lymphogranulomatose bzw. der Therapie, indem die latent bestehende Infektion des lymphoretikulären Systems aktiviert wird, was einen Booster-Effekt auf den Antikörperspiegel zur Folge hat. Patienten, die noch keine Primärinfektion durchge-macht haben, zeigen diesen Effekt natürlich nicht und bleiben EBV-negativ.

Die Arbeitsgruppe JOHANSSON et al. (70) zeigt, daß die lymphozytenreiche, relativ benigne Form der Lymphogranulomatose keine regelmäßige Erhöhung der EBV-Antikörper aufweist im Vergleich zu Kontrollgruppen. Die lymphozytenarme oder sarkomatöse Form, die einen hochmalignen Verlauf nimmt, ist verknüpft mit hohen Anti-VCA- und Anti-MA-Titern. Die Hypothese eines einfachen Passagier-Virus würde das Gegenteil fordern, d.h. eine Parallele zwischen EBV-Antikörper-Titern und lymphozytärer Infiltration.

2.5. Die Beziehung des EB-Virus zu Leukämien.

Die Fähigkeit des EB-Virus, Leukozyten zu unbegrenztem Wachstum anzuregen, und die Ähnlichkeit der infektiösen Mononucleose mit einer selbstbegrenzenden Leukämie (17) gaben Anlaß zu einer Reihe von Untersuchungen über EB-Virus bei Leukämien.

In der Anamnese leukämischer Kinder fand man die IM nicht häufiger als bei den Kontrollen, und in ihrer Familie trat auch keine Häufung von IM auf (31). Gegen eine ätiologische Beteiligung des EB-Virus spricht weiterhin, daß antikörpernegative Fälle sowohl bei chronischer lymphatischer Leukämie (CLL) (71) und chronischer myeloischer Leukämie (100) als auch bei akuten Leukämien (32,118) in normaler Häufigkeit auftreten.

Bei CLL Patienten beobachtet man jedoch einen Prozentsatz von 45 % mit hohen Anti-VCA-Titern gegenüber 13 % bei der entsprechenden Kontrollgruppe (55). Der GMT der CLL Patienten ist signifikant höher als der GMT bei chronischer myeloischer Leukämie und bei der Kontrollgruppe ($p < 0.001$) (85). Dabei sind die Antikörperspiegel zur Zeit der Diagnose nicht höher als im späten Stadium (71). Die serologische Reaktion gegen das EB-Virus hängt nicht davon ab, ob der Gammaglobulinspiegel erhöht, erniedrigt oder normal ist (71,85). Es ergibt sich keine Beziehung zwischen Leukozytenzahl oder absoluter Lymphozytenzahl und dem VCA-Antikörper-Titer (85). Die Titer bleiben im Verlauf der Krankheit (Beobachtungszeit 5 Jahre) bemerkenswert konstant (82), auch unter Chemotherapie (85,63).

Bei Hauttests zeigt sich, daß die EBV-Titer von anergischen Patienten nicht höher sind als bei solchen mit positiver zellulärer Immunreaktion. Daher sind die erhöhten Titer wohl nicht durch eine unspezifisch geschwächte Immunabwehr zu erklären (63).

In einer brasilianischen Studie (13) ist unter 25 Fällen akuter Leukämie (13 ALL und 12 AML) keiner ohne VCA-Antikörper, der GMT liegt um den Faktor 2 bzw. 3 (ALL bzw. AML) höher als bei der Kontrollgruppe. Bei Kindern mit ALL und AML einer amerikanischen Studie (32) entspricht die Häufigkeit von EBV-positiven Seren der bei gesunden Kindern aus den wirtschaftlich gut gestellten sozialen Schichten. Seropositive Fälle sind bei behandelten und unbehandelten Kindern gleich häufig, unabhängig vom klinischen Status.

Im Vergleich einer Gruppe von jungen ALL-Patienten mit einer Überlebenszeit von mehr als 3 1/2 Jahren mit einer Gruppe im Finalstadium der Krankheit und einer Kontrollgruppe nicht hämatologisch Kranker zeigt die erste Gruppe einen statistisch signifikant höheren Titer als die beiden anderen Gruppen (118). Wie bei der chronischen lymphatischen Leukämie zeigen sich auch bei der akuten lymphatischen Leukämie nur geringe Titer-schwankungen im Verlauf der Erkrankung (118).

2.6. Die Beziehung des EB-Virus zu Lymphomen und anderen Erkrankungen.

Eine Studie an 23 Lymphompatienten (71) dokumentiert speziell für wenig differenzierte Tumore signifikant höhere Titer für VCA- und MA-Antikörper als bei der Kontrollgruppe. Der GMT der Lymphompatienten liegt bei 1 : 130, während der GMT der Kontrollgruppen bei 1 : 43 liegt; diese Aussage verliert allerdings an Gewicht, da die Kontrollgruppe im Alter wesentlich von der Patientengruppe abweicht (38).

Bei 32 Lymphompatienten einer anderen Untersuchung (84) ergibt sich ein GMT von 1 : 200 im Gegensatz von 1 : 91 bei gesunden Kontrollpersonen.

Die Ergebnisse, die bei der Sarkoidose über den EBV-Antikörperstatus gefunden werden, sind stark voneinander abweichend. Einige Autoren berichten eine signifikante Erhöhung der EBV-Antikörpertiter (65), andere berichten von einigen Patienten mit hohen Titern aber keinem regelmäßigen Anstieg (126). Wieder andere finden überhaupt keine signifikanten Veränderungen (36). Auch im systemischen Lupus Erythematoses sind erhöhte Titer beobachtet worden (28).

2.7. Untersuchungen über IgM-Antikörper.

IgM-Antikörper können diagnostisch verwertet werden, um eine frische Infektion zu beweisen (5,110,125). Der Nachweis von IgG-Antikörpern gegen EB-Virus ist wenig geeignet, die Diagnose einer infektiösen Mononucleose zu sichern, da hierzu ein Titeranstieg verlangt werden muß, der oft erst lange nach der Krankheit auftritt. Bei klinischem Verdacht auf IM und negativem Test auf heterophile Antikörper kann der IgM-Test zu einer sicheren Diagnose führen. EB-Virus-spezifische IgM-Antikörper können bei Patienten mit IM 1 bis 10 Wochen nach Ausbruch der Krankheit festgestellt werden (4), bzw. nach einer anderen Untersuchung im Zeitraum von 4 bis 12 Wochen (111). Bei 9 Patienten mit Burkitt-Lymphom, 6 Patienten mit Nasopharyngeal-Carcinom und 3 Patienten mit M. Hodgkin konnten dagegen keine IgM-Antikörper gegen EB-Virus nachgewiesen werden (4).

SCHMITZ ET AL. (112) gelang der Nachweis von IgM-Antikörpern gegen EB-Virus bei einem Patienten mit Nasopharyngeal-Carcinom, drei früh diagnostizierten Fällen von M. Hodgkin und bei einem 11-Jährigen mit Burkitt-Lymphom 6 Wochen nach dem Auftreten des Tumors.

In einer Kontrollgruppe von 300 Personen sind in 5 Fällen IgM-Antikörper gegen EB-Virus gefunden worden, 3 Patienten waren an einer Cytomegalie-Virusinfektion erkrankt, einer an Hepatitis

und einer war ein gesunder Blutspender (98). Bei 58 gesunden Blutspendern, von denen 55 Seren IgG-Antikörper in Titern von 1 : 128 und höher enthalten, ist in keinem einzigen Fall der IgM-Test positiv ausgefallen (111).

Der Zeitraum von 12 Wochen, in dem IgM-Antikörper normalerweise im Serum vorhanden sind (siehe Tabelle 2), ist bei einem Patienten mit sechsmonatigem Krankheitsverlauf deutlich überschritten, IgM-Antikörper sind sechs Monate lang nachweisbar (4). Daß bei protrahiertem oder kompliziertem Verlauf von Viruserkrankungen eine verlängerte IgM-Antwort auftreten kann, ist auch von Masern und Röteln bekannt (45,16). Auch immun-suppressiv behandelte Patienten mit Nierentransplantation produzieren über lange Zeit (maximal beobachtete Zeit 136 Wochen) IgM-Antikörper, hier gegen Cytomegalie-Virus, jedoch nicht alle infizierten Patienten (21 von 50) (95). IgM-Antikörper sind Sofort-Antikörper, die bei guter Immunitätslage nach einigen Wochen wieder verschwinden, bei persistierendem Antigenstimulus kann die IgM-Produktion aber sehr viel länger andauern.

Einige Untersuchungen widersprechen jedoch der Vorstellung, daß IgM-Antikörper nur Anzeichen einer immunologischen Primärreaktion sind (8,113,115). So zeigen die Ergebnisse bei vorgeimpften Masernpatienten (14,87) und bei Zosterpatienten (109), daß das Auftreten spezifischer IgM-Antikörper nicht immer auf den erstmaligen Kontakt mit dem betreffenden Antigen beschränkt bleibt.

Tab. 2: Ergebnisse von Untersuchungen über IgM-Antikörper
gegen EB-Virus.

Autor	Diagnose	Anzahl	Anzahl mit IgM anti-VCA	Dauer der IgM-Antwort (Wochen)
Banatvala et al.(4)	IM	8	8	1 bis 25
Schmitz und Scherer (111)	IM	61	48	1 bis 12
Nikoskelainen et al.(98)	IM ohne hetero- phile AK	46	45	1 bis 12
Grose et al. (43)	Akute neurol. Erkrankungen	21	5	1 bis 5
Schmitz et al.(112)	Fieber und Lymphknoten- schwellung	110	36	1 bis 10
Nikoskelainen et al.(98)	Kontrollen	300	5	nicht angegeben
Schmitz und Scherer(111)	Gesunde Blutspender	58	0	-

3. Eigene Untersuchungen: Material und Methoden

3.1. Methoden

3.1.1. Zellausstriche

Permanente Kulturen des Zellstammes HRIK wurden im Medium 1640 gezüchtet, welches jede Woche erneuert wurde. Die Zellsuspension wurde 10 Minuten bei 1200U/min zentrifugiert, und das Sediment auf Mikroobjektträger von 7 x 30 mm Größe als dünner Zellrasen aufgetragen. Die Ausstriche wurden unter kaltem Luftstrom getrocknet, fixiert (siehe unten) und bis zur Färbung bei - 20° C gelagert.

3.1.2. Bestimmung der VCA-Antikörper der IgG-Klasse gegen EB-Virus.

Der indirekte Immunofluoreszenztest nach HENLE (12) wurde angewendet. Zur Färbung wurde Immuns serum vom Kaninchen gegen menschliches Immunglobulin G benutzt (Firma Medac, Hamburg).

3.1.3. Bestimmung der IgM-VCA-Antikörper des EB-Virus.

Eine modifizierte Form des HENLE Tests (51) diente zur Bestimmung der EBV-IgM-Antikörper. Um unspezifische Fluoreszenzreaktionen durch die nicht hochwertig gereinigten Antihuman-IgM-Seren zu vermeiden, wurde vom Patientenserum nur die säulenchromatographisch gewonnene IgM-Fraktion verwendet. In der Weiterentwicklung des Tests zeigte sich jedoch, daß bei einer zellschonenderen Fixierung der virushaltigen Kulturzellen sichere Ergebnisse auch mit Vollserum erreicht werden können. Mit beiden Techniken wurde gearbeitet und die Ergebnisse wurden verglichen.

Fixierung beim IgM-Fraktionstest:

Früher erfolgte die Fixierung der Zellausstriche 3 Minuten in Methanol-Aceton-Gemisch 1 : 1. Diese Technik wurde von der folgenden abgelöst.

Fixierung im IgM-Vollserum-Test:

Die Fixierung wurde mit Isopenthan (Roth) 99Mol% bei -160°C durchgeführt. Dazu wurde ein großer Metalltopf mit flüssigem Stickstoff gefüllt und 4 Minuten stengelassen (Temperatur -160°C). Ein kleiner Metalltopf mit Isopenthan und den Zellausstrichen wurde in den großen Stickstofftopf gestellt. Nach einer halben Minute wurden die Objektträger herausgenommen und luftgetrocknet.

3.1.4. Beurteilung der Fluoreszenz.

Zum Ablesen wurden die Mikroobjektträger abgebrochen und einzeln auf Standardobjektträger in Glycerin-PBS-Gemisch 1 : 2 eingebettet. Die Beurteilung erfolgte mit dem Mikroskop M 12 der Firma Wild, Heerburg, Schweiz, mit FITC-Blaulicht-Erregerfilter und Filter BG 23/2 im Dunkelfeld mit einer Quarzjodlampe 12 V/100W. Im IgG-Test wurden die Seren in geometrischer Verdünnungsreihe austitriert, als Titer wird die größte Serenverdünnung angegeben, in der noch positive Zellen erkennbar waren. Im IgM-Test wurde die Fluoreszenz in der Serumverdünnung 1 : 18 bzw. 1 : 10 (Fraktionstest bzw. Vollserumtest) im positiven Falle je nach Intensität mit + oder ++ beschrieben.

3.1.5. Spezifität des IgM-Tests.

In jedem IgM-Test mit Serumfraktion wurden als negative Kontrollen die IgM-Fractionen von zwei gesunden Personen und die IgG-Fraktion von zwei Seren mit hohen IgG-Anti-EBV-Titern einbezogen. Als positive Kontrollen dienten 3 Seren von Patienten mit frischer infektiöser Mononucleose.

3.1.6. Auftrennung der Seren mit Säulenchromatographie.

Die IgM-Fraktion des Serums wurde durch säulenchromatographische Auftrennung mit Biogel A 0.5 m (Firma Bio Rad Laboratories, Richmond, Calif.) gewonnen (117). Dabei wurde eine Säule von 1.2 cm Durchmesser und 95 cm Höhe verwendet. 0.5 ml Serum wurden aufgetragen und mit 0.01 molarem Natriumphosphatpuffer vom pH 7.4 eluiert. Der Fraktionssammler (Firma LKB-Produkte AB, Stockholm, Schweden) sammelte 30 Tropfen pro Gläschen. Die Eiweißextinktion wurde im Durchflußphotometer (Firma LKB-Produkte AB, Stockholm, Schweden) in UV-Transmission bei 280 nm Wellenlänge gemessen und vom dazugehörigen Schreiber eine Transmissionskurve geschrieben (Abszisse: Elutionsvolumen).

Ein typisches säulenchromatographisches Auftrennungsbild eines Serums mit der Diagnose Lymphosarkom zeigt Abb. 1.

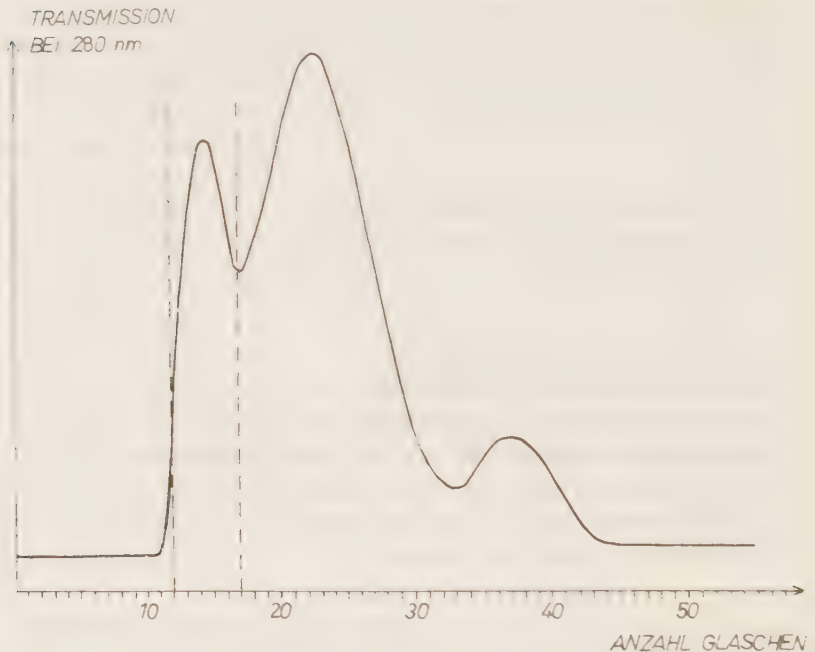


Abb. 1: Bild einer Serumauftrennung durch Säulenchromatographie.

Die Fraktionen unter dem ersten Gipfel enthalten die makromolekularen Immunglobuline M. Die 5 Fraktionen (hier Gläser 12 - 16) wurden zusammengeschüttet; die Fraktionen des zweiten Gipfels mit den Immunglobulinen G wurden zur Kontrolle ebenfalls gesammelt. Nach ca. 2 1/2 Stunden Elutionszeit konnte ein neues Serum aufgetragen werden. Das Volumen von 5 Gläsern mit je 30 Tropfen beträgt 9 ml. Die so erhaltene Verdünnung des Serums wurde im indirekten Immunofluoreszenztest auf IgM-Antikörper gegen EB-Virus getestet.

2.2. Krankengut.

IgG-Antikörpertestungen gegen EB-Viren wurden durchgeführt bei 113 Patienten mit malignen Erkrankungen, deren Seren von September 1972 bis März 1975 an virologischen Tests ins Friedrich-Meyer-Institut der Universitätsklinik München eingebracht wurden. Die IgG-Antikörpertiter wurden von 330 Patienten mit malignen Erkrankungen aus der Zeit vom September 1972 bis Juni 1975 erfasst und ausgewertet. Die Zusammensetzung des Krankengutes im IgG-Test nach Diagnose geht aus Tabelle 3 hervor. Weiterhin sind die Seren aufgeführt, die in die beiden IgM-Tests gingen, wobei in Klammern die reduzierte Anzahl des zweiten IgM-Tests mit Vollserum steht. 11 Seren konnten hier nicht einbezogen werden, da sie aufgebraucht waren. Die Kinder bis 15 Jahre bildeten eine Gruppe, die Erwachsenen über 15 Jahre wurden in der anderen Gruppe zusammengefaßt.

Tabelle 3: Krankengut.

Diagnose	IgG-Test		IgM-Test	
	Anzahl Kinder	Anzahl Erwachsene	Anzahl Kinder	Anzahl Erwachsene
M.Hodgkin	30	55	13	18 (17)
Lymphosarkom	31	7	13(12)	1
Lymphom	-	35	-	10
OLL	-	4	-	1
ALL	96	-	25(22)	-
AML	5	20	5(4)	6
Neuroblastom	17	-	10(5)	-
Wilms tumor	7	-	4	-
Verschiedene Malignome	20	3	6	2
Insgesamt	206	124	76(66)	38(37)

In Klammern die reduzierte Anzahl im IgM-Test mit Vollserum.

Folgende Tumoren wurden in der Kindergruppe unter verschiedene Malignome zusammengefaßt; 4 Mediastinaltumoren, 3 Milztumoren, Ewing Sarkom, 2 Osteosarkome, 3 Rhabdomyosarkome, Sarkom der rechten Brustwand, undifferenziertes Weichteilsarkom am Oberschenkel, metastasierendes Dysgerminom, Hepatocelluläres Carcinom, 2 Oberbauchtumoren und ein nicht näher bezeichnetes Malignom. Bei den verschiedenen Malignomen der Erwachsenen handelt es sich um folgende Diagnosen: Mediastinaltumor, Plasmozytom und Seminom. Tab. 4 gibt Aufschluß über das Alter der Kinder, die Altersgruppenverteilung bei den Erwachsenen ist Tab. 5 zu entnehmen.

Kontrollen

Als Kontrollen dienten Patienten mit Hämophilie A, verschiedenen bakteriellen Infekten, Viruserkrankungen, jedoch nicht mit klinischen Zeichen einer infektiösen Mononucleose, Hepatomegalie, Splenomegalie, Thalassämie, cerebralen Anfallsleiden, Herzfehlern und anderen nicht malignen Erkrankungen, sowie Gesunde. Die Gruppe der bis 15jährigen umfaßte 259 Kinder, ihre Altersverteilung ist Tab. 4 zu entnehmen. Bei vergleichenden Betrachtungen mit Patienten wurden die 20 Kontrollkinder, die noch nicht das erste Lebensjahr vollendet hatten, weggelassen, da diese Altersstufe bei den Patienten nicht vertreten war. Die andere Gruppe wurde von 91 Erwachsenen gebildet, deren Altersverteilung Tab. 5 enthält.

Tab. 4: Altersverteilung der kindlichen Patienten.

Diagnose	Jahre An- zahl	<1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
M.Hodgkin	30					2		2	3	3	4	2	2	5	3	3	1
Neuroblastom	17	1	2		4	1	1	1	1			1	3			1	1
ALL	96	1	1	5	12	10	5	10	12	11	9	8	4	4	2	1	2
AML	5	1								1	1				1	1	
Wilmstumor	7	1		1	3	2											
Lymphosarkom	31				2	3	4	5	5		1	5			6		
Verschiedene Malignome	20			2	1	1	2	1	1	3	3	1	3		1	1	
Alle	206	4	3	8	22	19	12	19	22	18	18	17	12	9	13	6	4
Kontrollen	259	20	11	9	15	13	18	23	22	19	12	15	24	18	21	11	8

Tab. 5: Altersverteilung der erwachsenen Patienten.

Diagnose \ Jahre	An- zahl	16- 20	21- 25	26- 30	31- 35	36- 40	41- 45	46- 50	51- 55	56- 60	61- 65	66- 70
M.Hodgkin	55	5	7	12	9	4	1	5	4	4	3	1
AML	20	3		6	3	2	1	3				2
CLL	4			1						1	1	1
Lymphosarkom	7		1		1		1		2	2		
Lymphom	35	3	3	2	1	1	6	3	3	8	1	4
Verschiedene	3			1		1			1			
Malignome												
Alle	124	11	11	22	14	8	9	11	10	15	5	8
Kontrollen	91	25	14	9	11	7	7	5	6	0	4	3

4. Ergebnisse

4.1. Normale Durchseuchung.

In den Kontrollgruppen wurde die altersabhängige Verteilung der Antikörper gegen EB-Virus untersucht, die gefundenen Titer sowie GMT der positiven Seren sind in der Tabelle 6 dargestellt.

Tab. 6: Verteilung der EBV-Antikörper in verschiedenen Altersgruppen der Kontrollpopulation.

Altersgruppe	Anzahl	Anzahl der Seren mit dem EBV-Titer von								GMT
		<10	10	20	40	80	160	320	640	
0 - 6 Monate	13	2	2	1	1	1		1		1: 36
7 - 12 Monate	7	7								
1 - 1 Jahr	11	7		1	2		1			1: 48
2 - 4 Jahre	37	17	4	2	7	2	3		2	1: 49
5 - 7 Jahre	63	27	4	5	11	7	1	6	2	1: 61
8 - 10 Jahre	46	11	2	5	10	6	9	2	1	1: 66
11 - 13 Jahre	63	20	2	6	14	12	6	2	1	1: 59
14 - 15 Jahre	19	9	1		2	3	3	1		1: 80
16 - 30 Jahre	48	7	5	3	13	12	5	3		1: 54
31 - 40 Jahre	18			2	3	9	2	1	1	1: 80
41 - 70 Jahre	25	4		2	3	6	3	5	2	1:119

In Abb. 2 ist der Anteil der Kinder mit EBV-Antikörpern in ihrer Altersgruppe gegen das Alter aufgetragen, gleichzeitig wird die altersabhängige Schwankung des GMT dargestellt. Die Kurve unterscheidet sich kaum von der Altersverteilung der EBV-Antikörper bei amerikanischen Kindern aus niedrigeren sozialen Schichten, während Kinder aus höheren sozialen Schichten in Amerika in deutlich geringerem Ausmaß EBV-Antikörper besaßen (58). Da bei den Kindern dieser Untersuchung die soziale Herkunft unberücksichtigt blieb, deutet diese Altersverteilung darauf hin, daß die Durchseuchungsrate im Kindesalter hier eher größer ist als in Amerika.

Der GMT steigt mit zunehmendem Alter, die über 40jährigen erreichen 1 : 119. Diese Abhängigkeit wird auch von anderen Untersuchern beschrieben, ohne daß die Ursache bekannt ist. Es zeigt sich, daß bei Aussagen über erhöhte Reaktivität gegen EB-Virus bei verschiedenen Erkrankungen unbedingt im Alter vergleichbare Kontrollgruppen gebildet werden müssen.

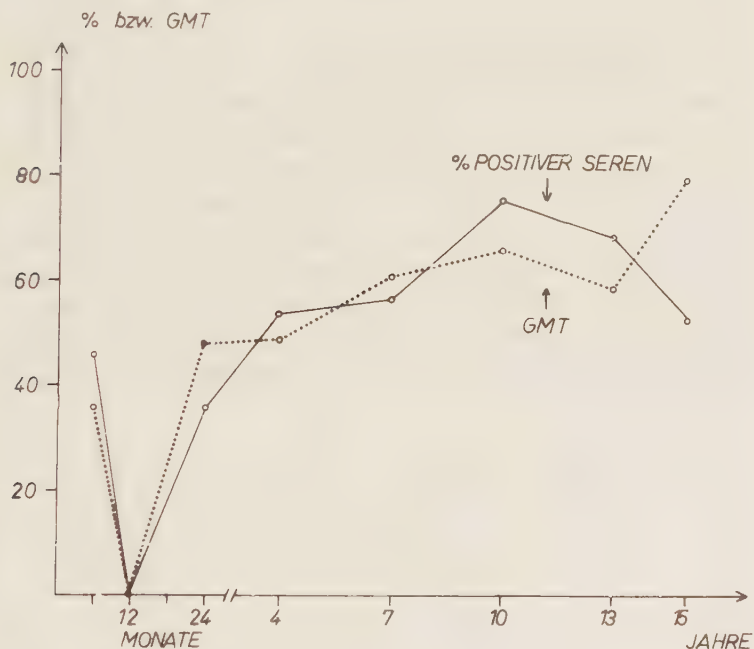


Abb. 2: Antikörper gegen EB-Virus bei Kontrollkindern. Prozentualer Anteil positiver Seren und GMT in verschiedenen Altersgruppen.

4.2. VCA-Antikörper der IgG-Klasse gegen EB-Virus bei Patienten mit malignen Erkrankungen im Vergleich zu den Kontrollgruppen.

Tab. 7 zeigt die Verteilung der VCA-Antikörpertiter und den GMT der Patienten mit verschiedenen malignen Tumoren aufgeteilt in eine Altersgruppe bis 15 Jahre und eine über 15 Jahre.

4.2.1. Ergebnisse in der Kindergruppe.

In Abb. 3 ist der Prozentsatz antikörperpositiver Seren der Kontrollgruppe, der ALL-, der Lymphosarkom- und der M.Hodgkin-Gruppe graphisch dargestellt. Es fand sich bei den Kontrollkindern der gleiche Prozentsatz antikörperpositiver Seren wie bei den ALL- und Lymphosarkom-Patienten mit jeweils 58 %. Davon hoben sich deutlich die kindlichen M.Hodgkin-Patienten ab, die mit 93 % Durchseuchung weit über der Norm ihrer Altersgruppe liegen. Aus Tab. 8 ist für die verschiedenen Patientengruppen das Durchschnittsalter, die Anzahl positiver Seren und der GMT zu entnehmen.

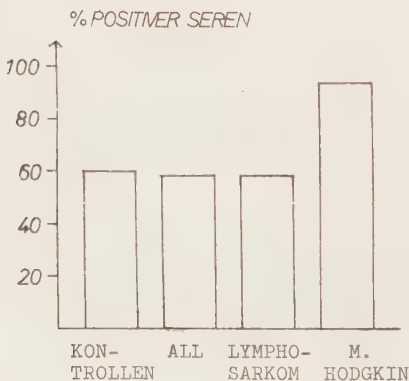


Abb. 3: VCA-Antikörper gegen EBV bei Kontrollen und malignen Erkrankungen von Kindern. Prozent positiver Seren.

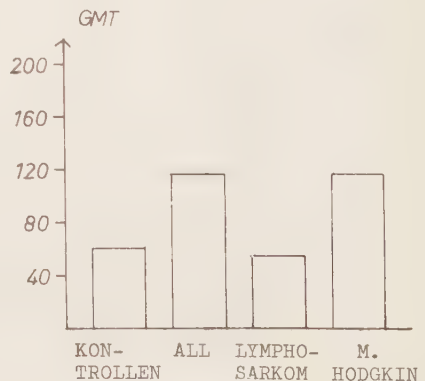


Abb. 4: GMT der antikörperpositiven Seren bei Kontrollen und malignen Erkrankungen von Kindern.

Tab. 7: Verteilung der IgG VCA-Antikörper-Titer gegen EB-Virus bei Patienten mit Malignom.

Diagnose	Altersgruppe (Jahre)	Anzahl der Seren	Anzahl der Seren mit dem Titer von												GMT
			<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120		
M. Hodgkin	≤ 15	30	2	3	1	5	6	4	3	5			1	116	
	> 15	55	1	1	3	6	7	14	9	7	6	1		189	
Lymphosarkom	≤ 15	31	13	3	2	3	5	4	1					52	
	> 15	7				1	2	1	1	1	1			195	
Lymphom	> 15	35	3		2	3	5	8	4	3	3	2	2	247	
CLL	> 15	4					2							160	
ALL	≤ 15	96	40	4	4	8	11	9	12	6	2			117	
AML	≤ 15	5	1				1	3						135	
	> 15	20	4	2	2	2	4	3	1	2				77	
Neuroblastom	≤ 15	17	6			2		3	3	3				219	
Wilms tumor	≤ 15	7	3		1		1	1		1				160	
Verschiedene	≤ 15	20	6	2	1	4	2	3	1			1		72	
Malignome	> 15	3	1			1				1				160	
Kontrollen	≤ 15	259	105	15	20	47	31	23	12	6				59	
	> 15	91	11	5	7	19	27	10	9	3				73	

Tab. 8: Durchschnittsalter und GMT in den verschiedenen
Diagnosegruppen.

Gruppe	Durchschnitts- alter	Anzahl	Anzahl positiv	GMT
Kontrollen	8	239	148	1 : 60
M. Hodgkin	10	30	28	1 : 116
Lymphosarkom	7	31	18	1 : 54
ALL	7	96	56	1 : 117
Neuroblastom	7	17	11	1 : 219
Wilmstumor	3	7	4	1 : 160
AML	11	5	4	1 : 135
Verschiedene Malignome	8	20	14	1 : 72

Die graphische Darstellung der GMT (Abb. 4) zeigt, daß sich bei Kontrollgruppe und Lymphosarkom-Patienten nahezu der gleiche GMT ergab (1 : 60 bzw. 1 : 54), während der GMT von 1 : 117 der ALL-Patienten und der GMT von 1 : 116 in der M. Hodgkin-Gruppe sich davon deutlich unterschieden. Die Durchseuchung von 70 % und der GMT von 1 : 72 bei 20 Patienten mit verschiedenen Malignomen blieben im Rahmen der Ergebnisse bei altersentsprechenden Kontrollen. Nur 7 Patienten mit Wilmstumor wurden untersucht, bei 4 davon waren EBV-Antikörper nachweisbar, ein GMT von 1 : 160 wurde erreicht. Vier von fünf Patienten mit akuter myeloischer Leukämie zeigten EBV-Antikörper im GMT von 1 : 135. Auffällig sind die Ergebnisse in der Neuroblastomgruppe. Von 17 Patienten waren 6 antikörpernegativ, während die 11 übrigen den höchsten GMT in der Kindergruppe mit 1 : 219 erreichten.

Die Ergebnisse der vier Gruppen M.Hodgkin, Lymphosarkom und Kontrollgruppe wurden in Form einer Titerregressionskurve graphisch aufgezeichnet und miteinander verglichen. In Abb. 5 ist auf der Abszisse der reziproke EBV-Antikörpertiter aufgetragen, auf der Ordinate der Prozentsatz der Patienten, deren Antikörperspiegel größer gleich dem jeweiligen Titer ist. Die höchsten Titerstufen und die häufigsten positiven Anti-EBV-Titer findet man bei der Lymphogranulomatose. Davon deutlich abgesetzt ist der Kurvenverlauf der Kontrollgruppe. Der letzteren sehr ähnlich ist der Verlauf der Lymphosarkomgruppe. Die ALL-Kurve verläuft im Titerbereich bis 1 : 40 sehr dicht bei der Kontrollkurve, im höheren Titerbereich liegt sie in der Mitte zwischen M.Hodgkin und Kontrollgruppe. Zum besseren Verständnis der graphischen Darstellungen sind in der Tab. 9 die entsprechenden Anteile der Patienten, die Titerstufen größer gleich 1 : 10, 1 : 80 und 1 : 320 erreichen, nochmals aufgeführt.

Tab. 9: Prozentuale Verteilung der Seren auf verschiedene Titerstufen bei Kindern.

Diagnose	Anzahl	% positiv bei Titer		
		1 : 10	1 : 80	1 : 320
M.Hodgkin	30	93	63	30
ALL	96	58	42	21
Lymphosarkom	31	58	32	3
Kontrollen	239	62	30	7

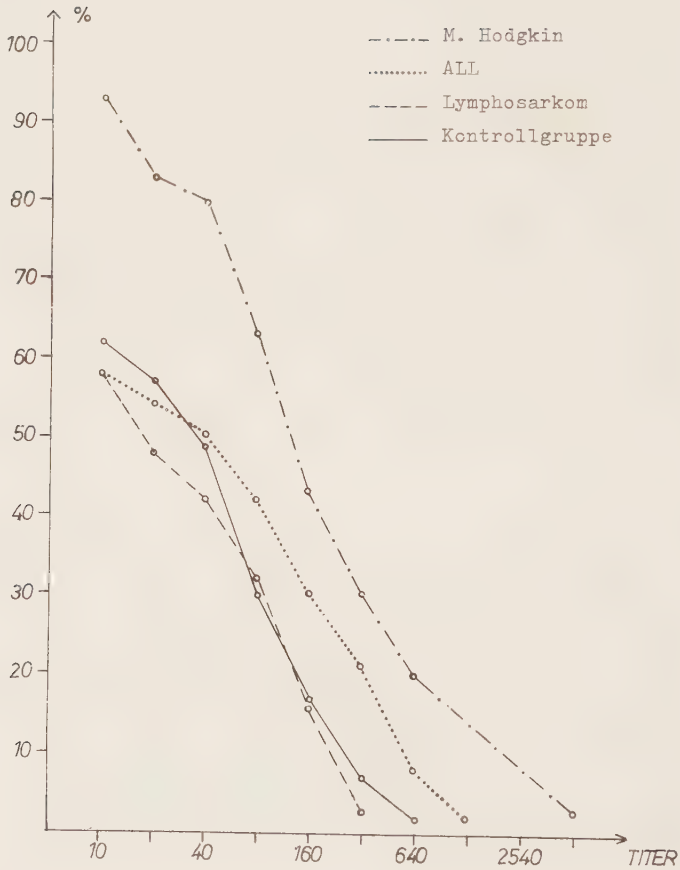


Abb. 5: Titerregressionskurven von VCA-Antikörpern gegen EBV bei Kindern.

4.2.2. Ergebnisse in der Erwachsenengruppe.

In Tab. 7 ist die Anzahl antikörperpositiver Seren und der GMT der untersuchten Patientengruppen aufgeführt; die Abb. 6 und Abb. 7 veranschaulichen diese Ergebnisse für die Kontrollgruppe, die AML-, die Lymphom- und die M.Hodgkin-Gruppe.

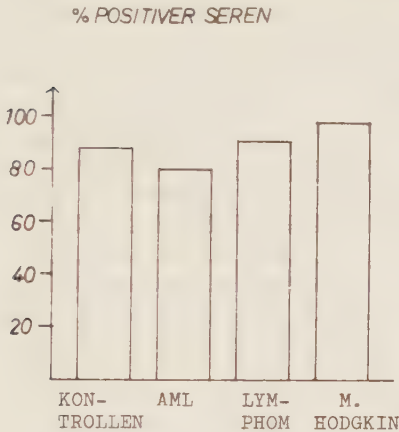


Abb. 6: VCA-Antikörper gegen EBV bei Kontrollen und malignen Erkrankungen von Erwachsenen. Prozent positiver Seren.

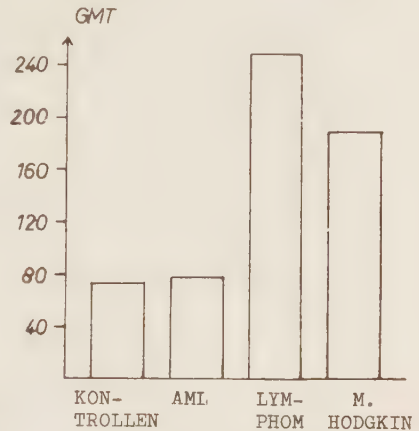


Abb.7: GMT der antikörperpositiven Seren bei Kontrollen und malignen Erkrankungen von Erwachsenen.

Der prozentuale Anteil antikörperpositiver Seren lag bei Kontrollen mit 88 %, AML mit 80 % und Lymphom mit 91 % im gleichen Bereich, während bei den M.Hodgkin-Patienten in 98 % der Fälle Antikörper gegen EB-Virus nachgewiesen wurden. Der GMT von 1 : 77 der Kontrollen unterschied sich kaum vom GMT von 1 : 77 der AML-Patienten, wohl aber deutlich von dem der Lymphogranulomatosepatienten, die 1 : 189 erreichten; in 7 Fällen wurden außergewöhnlich hohe Titer $\geq 1 : 1280$ gefunden. Noch höher lag der GMT der Lymphompatienten, nämlich bei 1 : 247, hier wurden ebenfalls siebenmal Titer $\geq 1 : 1280$ gefunden. Diese Gruppe schloß zweimal Burkitt-Lymphome ein, deren Titer betrugen 1 : 1280 und 1 : 80. Sieben Lymphosarkompatienten wurden untersucht,

hier zeigten sich keine wesentlichen Unterschiede zur Lymphomgruppe. Der GMT von 1 : 195 überstieg der Kontrollwert deutlich, was im Gegensatz zum Ergebnis in der Kindergruppe steht, wo die Lymphomsarkompatienten nicht von der Kontrollgruppe abwichen. Vier Patienten mit CLL und drei Patienten mit verschiedenen Malignomen erreichten einen GMT von 1 : 160.

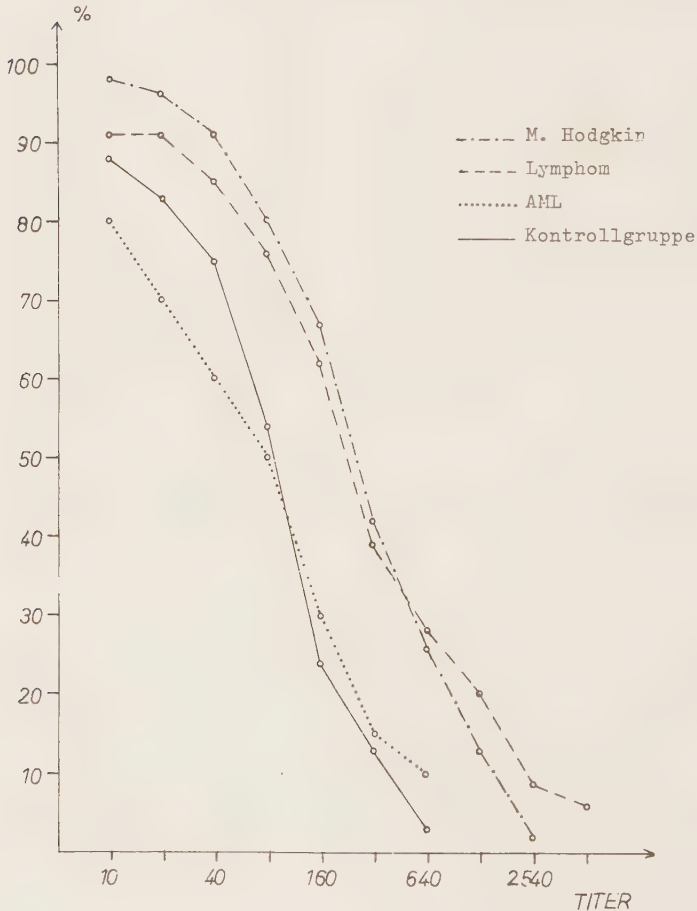


Abb. 8: Titerregressionskurven von VCA-Antikörpern gegen EB-Virus bei Erwachsenen.

Auch für die Erwachsenen wurden die Ergebnisse von Kontrollgruppe, M.Hodgkin-, Lymphom- und AML-Patienten in Titerregressionskurven graphisch dargestellt (Abb. 8). Die Titer - regressionskurve der akuten myeloischen Leukämie blieb im Titerbereich bis 1 : 80 unter der Kurve der Kontrollgruppe, darüber zeigte sich ein ähnlicher Verlauf. Bei den M.Hodgkin-Patienten fand man wie auch bei den Kindern hohe Titerstufen und die häufigsten positiven Anti-EBV-Titer. Die Kurve der Lymphompatienten blieb unterhalb der M.Hodgkin-Kurve, was die Häufigkeit antikörperpositiver Seren betrifft, erreichte jedoch höhere Titerstufen.

Tab. 10 enthält für die Verdünnungsstufen 1 : 10, 1 : 80 und 1 : 320 das Zahlenmaterial für die Titerregressionskurven.

Tab. 10 Prozentuale Verteilung der Seren auf verschiedene Titerstufen bei Erwachsenen.

Diagnose	Anzahl	% positiv bei Titer		
		1 : 10	1 : 80	1 : 320
M.Hodgkin	55	98	80	42
Lymphom	35	91	76	39
AML	20	80	50	15
Kontrollen	91	88	54	13

4.2.3. Statistische Berechnungen.

Mit Student's t-Test wurde geprüft, ob die Abweichung des GMT bei malignen Erkrankungen vom GMT der Kontrollgruppe statistisch gesichert ist. Aus Tab. 11 sind die t-Werte der geprüften Gruppen ersichtlich. Die Abweichung des GMT der Kinder mit M.Hodgkin ist gegenüber dem GMT der Kontrollkinder eindeutig signifikant, die Abweichung des GMT der Kinder mit ALL gegenüber Kontrollen hochsignifikant. Bei den erwachsenen Patienten weichen die GMT der Gruppen M.Hodgkin und Lymphom ebenfalls hochsignifikant vom GMT der erwachsenen Kontrollgruppe ab.

Tab. 11: Statistische Prüfung der Abweichung des GMT der Patientengruppen vom GMT der Kontrollgruppen mittels t-Test.

Diagnose:	Anzahl	GMT	t-Wert	Sicherheitsgrenze
Kinder				
M.Hodgkin	28	1 : 116	2.843	$t_{0.01} = 2.604$
ALL	56	1 : 117	3.803	$t_{0.001} = 3.340$
Neuroblastom	11	1 : 219	3.950	$t_{0.001} = 3.352$
Erwachsene				
M.Hodgkin	54	1 : 189	4.866	$t_{0.001} = 3.366$
Lymphom	32	1 : 247	5.011	$t_{0.001} = 3.381$
Kinder Kontrollen	239	1 : 60	-	-
Erwachsene Kontrollen	80	1 : 73	-	-

Im t-Test wurde mit den Logarithmen der reziproken GMT gerechnet.

In der Kinderkontrollgruppe stieg der GMT mit zunehmendem Alter. Um auszuschließen, daß die Abweichung des GMT der Patientengruppen von der Kontrollgruppe nur altersbedingt ist, wurde in einer Kovarianzanalyse, in der das Alter als Kovariate einging, die Abhängigkeit der Titerhöhe vom Alter in Patientengruppen und Kontrollgruppe berücksichtigt. Es zeigte sich zwischen den Gruppen ALL und Kontrolle ein hoch signifikanter Unterschied im GMT (F-Wert = 14.053 bei $n_1 = 1$ und $n_2 = 201$ Freiheitsgraden gegenüber $F_{0.001}(1,201) = 11.3$), und ein eindeutig signifikanter Unterschied zwischen M.Hodgkin-Patienten und Kontrollgruppe (F-Wert = 6.808 bei $n_1 = 1$ und $n_2 = 173$ Freiheitsgraden gegenüber $F_{0.01}(1,173) = 6.787$).

4.5. Ergebnisse des IgM-Antikörper-Nachweises.

Tabelle 12 zeigt die Seren, bei denen IgM-Bestimmungen durchgeführt wurden, mit den entsprechenden VCA-Antikörpertitern. Die Auswahl erfolgte zufällig, Seren mit hohen IgG-Antikörpertitern gegen EB-Virus wurden bevorzugt auch diesem Immunofluoreszenztest unterzogen. Daher liegt der GMT der meisten Gruppen etwas höher als im gesamten Patientengut des vorigen Abschnitts.

Bei 17 Patienten von 114 lassen sich IgM-Antikörper gegen EB-Virus in der Serumverdünnung 1 : 10 nachweisen. Der Immunofluoreszenztest mit der IgM-Fraktion des Patientenserums ergibt nur in 4 Fällen ein positives Ergebnis, hier wurde mit der Verdünnung 1 : 18 gearbeitet, bedingt durch die chromatographische Auftrennung. Tabelle 13 zeigt diese Ergebnisse mit Diagnose, Alter und IgG-Titer der VCA-Antikörper.

Bemerkenswert ist, daß unter 13 Patienten, die einen IgG - Titer $\geq 1 : 640$ zeigen, 5 auch IgM-Antikörper aufweisen. Unter 91 Seren mit niedrigerem Titer finden sich 12 mit IgM-Antikörpern.

Bei zwei Patienten konnte eine Serokonversion beobachtet werden; in Blutproben, die 3 Monate zuvor entnommen worden sind, fanden sich zwar IgG-Antikörper in Titern 1 : 80 bzw. 1 : 320, jedoch keine IgM-Antikörper. Bei der zweiten Blutprobe, die IgM-Antikörper enthielt, war bei einem Patienten der IgG-Titer konstant geblieben, beim anderen auf den außergewöhnlich hohen Wert von 1 : 5120 angestiegen. In diesen Fällen handelt es sich also nicht um Primärinfektionen, sondern um die Reaktivierung von latenten Infektionen, die offensichtlich mit dem Auftreten von IgM-Antikörpern verbunden ist. Die akuten EBV-Infektionen, als welche sie in diesen 17 Fällen durch IgM-Antikörper ausgewiesen werden, können kaum in ursächlichem Zusammenhang mit der malignen Grunderkrankung

Tab. 12: Verteilung der JgG-Anti-VCA-Titer gegen EB-Virus der auf IgM-Anti-VCA untersuchten Seren.

Diagnose	Altersgruppe (Jahre)	Anzahl der Seren	Anzahl der Seren mit dem IgG-Titer von										GMT	IgM positiv
			<10	10	20	40	80	160	320	640	1280			
M.Hodgkin	≤ 15	13	1		1	1	5	2	2	1			113	2
	> 15	13		1			2	4	5	3	3		274	2
lymphosarkom	≤ 15	13	6		1	2	2	2					66	3
	> 15	1					1							
Lymphom	> 15	10	1			1	1	2	2	2	1		254	3
CLL	> 15	1							1					
ALL	≤ 15	25	13		1	1	3	3	1	2	1		160	3
AML	≤ 15	5	1				1	3					135	1
	> 15	6	1	1	1		1		1	1			80	1
Neuroblastom	≤ 15	10	4			1		2	1	2			226	
Wilmstumor	≤ 15	4	2		1				1				80	
Verschiedene	≤ 15	6	1				2	2	1				139	2
Malignome	> 15	2	1			1								

der Patienten gesehen werden. Die Abwehrschwäche kann ein Aufflackern der latenten Infektion oder in einigen Fällen eine Primärinfektion begünstigt haben. Die überwiegende Anzahl der Tumorpatienten ohne IgM-Antikörper lassen nur diese Erklärung zu.

Tab. 13: Aufstellung der Patienten mit positivem IgM-Test.

Diagnose	Alter	IgG-Titer	IgM-Test mit Serumverdünnung	
			1 : 10 Vollserum	1 : 18 IgM-Fraktion
M.Hodgkin	13	1 : 5120	++	nicht getestet
M.Hodgkin	15	1 : 40	+	Ø
M.Hodgkin	31	1 : 640	+	Ø
M.Hodgkin	46	1 : 320	++	Ø
Lymphosarkom	3	Ø	+	+
Lymphosarkom	6	1 : 80	++	Ø
Lymphosarkom	13	1 : 40	+	+
Lymphom	47	1 : 320	++	Ø
Lymphom	52	1 : 320	+	Ø
Lymphom	66	Ø	+	+
ALL	4	1 : 640	+	Ø
ALL	4	1 : 640	+	Ø
ALL	5	Ø	++	Ø
AML	9	1 : 160	++	Ø
AML	32	1 : 640	++	Ø
Milztumor	5	1 : 80	+	Ø
Sarkom der re. Brustwand	10	1 : 160	+	++

Die Patienten ohne IgG-Antikörper, die jedoch IgM-Antikörper aufweisen, sind wohl in einem frühen Stadium der Infektion erfaßt worden, wobei leider kein Serum aus der späteren Phase zur Verfügung stand.

Bei einem Vergleich der Häufigkeit, in der IgM-Antikörper gegen EB-Virus bei Kontrollpersonen und Patienten mit malignen Erkrankungen auftreten, zeigt sich folgendes: In einer finnischen Studie (98) wurden in 5 Fällen EBV-IgM -Antikörper gefunden bei 300 Patienten mit akuten Infektionen verschiedener Ätiologie. In der vorliegenden Untersuchung ergibt sich sowohl für die gesamte Gruppe der malignen Erkrankungen, als auch für die Untergruppen M.Hodgkin, Lymphom und ALL eine gesicherte Abweichung von der Häufigkeit der IgM-Antikörper in der oben genannten Kontrollgruppe. Das signifikant häufigere Auftreten von IgM-Antikörpern gegen EB-Virus bei malignen Systemerkrankungen weist auf die unspezifische Begünstigung von EBV-Infektionen hin. Die unspezifische Rolle des EB-Virus läßt sich daraus vermuten, daß auch beim Lymphosarkom der Kinder eine größere Häufigkeit von EBV-IgM-Antikörpern vorkommt, als sie nach den Ergebnissen bei Kontrollpersonen zu erwarten wäre. Diese Erkrankung zeigt jedoch nicht wie M.Hodgkin und das Lymphom der Erwachsenen einen erhöhten GMT von IgG-Antikörpern gegen das EB-Virus. Durch die gestörte Immunitätslage bei malignen Erkrankungen läßt sich diese Häufung von akuten EBV-Infektionen erklären, eine ursächliche Beteiligung des EB-Virus an den untersuchten Malignomen ist mit diesen Ergebnissen nicht vereinbar.

Tab. 14: Statistische Analyse der Häufigkeit von EBV-IgM-antikörpern bei Patienten mit Malignomen gegenüber der Kontrollgruppe aus (98) mit χ^2 -Test.

Gruppe	Zahl der Patienten	Zahl der Seren mit IgM-AK	p aus χ^2 -Test
Kontrollgruppe	300	5	
Maligne Erkrankungen	114	17	p < 0.001
M.Hodgkin	30	4	p < 0.001
Lymphom+Lymphosarkom	23	6	p < 0.001
ALL	22	3	p < 0.001

5. Diskussion.

Die Ergebnisse dieser Art bestätigen die Sonderstellung des Burkitt-Lymphoms und des Nasopharyngealcarcinoms in ihrer serologischen und immunpathologischen Beziehung zum EB-Virus. Doch bemerkenswerte Befunde rücken die infektiöse Mononucleose in mancher Hinsicht in die Nähe der Malignome. So fand man bei der Sektion einer akuten IM eine ausgedehnte Lymphzell-Infiltration der größeren Parenchymorgane, die an eine neoplastische Proliferation erinnert (12). Die Frage, was die EB-Virus induzierte Lymphoproliferation wieder zum Stillstand bringt bzw. am Fortschreiten zu einer malignen Erkrankung hindert, bleibt offen. Ein anderer histologischer Befund stellt eine Verbindung zum M. Hodgkin her: In Lymphknoten einiger IM-Patienten wurden Sternberg-Reed-Zellen gefunden, die bislang für M. Hodgkin pathognomonisch galten (88).

In dieser Arbeit wurde die mögliche Beteiligung des EB-Virus an verschiedenen malignen Erkrankungen auf serologischem Gebiet untersucht. Dies geschah einmal durch den Nachweis von EB-Virus-spezifischen IgM-Antikörpern, zum anderen durch Vergleich des IgG-Antikörperspiegels von Tumor-Patienten mit Kontrollgruppen.

Der Nachweis fluoreszierender IgM-Antikörper-Antigenkomplexe brachte zunächst einige methodische Probleme mit sich. So wurde auch durch die aufwendige säulenchromatographische Gewinnung der IgM-Fraktion des Patientenserums nicht die erforderliche Genauigkeit und Zuverlässigkeit im Immunofluoreszenztest erreicht. Gute Reproduzierbarkeit und eindeutige Fluoreszenzergebnisse wurden durch eine zellschonendere Fixierung in Stickstoff bei -160°C erzielt, womit wohl die Antigendeterminanten weniger angegriffen wurden. Damit überbrückte sich die Serumauftrennung, es konnte wie beim IgT-Test mit Vollserum gearbeitet werden.

Der IgM-Immunofluoreszenztest ergab bei 17 Fällen von 114 Patienten mit malignen Erkrankungen ein positives Ergebnis. Beim statistischen Vergleich mit einer Kontrollgruppe von 300 Patienten mit verschiedenen akuten Infektionen, wo sich in 5 Fällen EBV-IgM-Antikörper nachweisen ließen (98), zeigt sich eine signifikant größere Häufigkeit bei den Patienten mit malignen Tumoren. Die Verteilung der positiven Fluoreszenzbefunde auf die verschiedenen Tumoren geht aus Tab. 15 hervor.

Tab. 15: Verteilung der positiven Befunde im IgM-Test auf die einzelnen Diagnosen

Diagnose	Anzahl der untersuchten Seren	Anzahl der positiven Seren
M. Hodgkin	30	4
Lymphosarkom	13	3
Lymphom	10	3
ALL	22	3
AML	10	2
Verschiedene Malignome	8	2

Der statistische Vergleich ergab auch für die Diagnosen M.Hodgkin, ALL und Lymphom (inclusiv Lymphosarkom) größere Häufigkeiten als es in der Kontrollgruppe der Fall war. Dabei fällt auf, daß die Häufigkeit in der akuten lymphatischen Leukämie erhöht ist, obwohl VCA-Antikörper der IgG-Klasse nicht häufiger als bei Kontrollkindern gefunden werden. Das gleiche gilt für die Kinder mit Lymphosarkom. Dieser Häufigkeitsvergleich läßt vermuten, daß das Auftreten von IgM-Antikörpern zwar durch die maligne Grunderkrankung begünstigt wird, jedoch nicht durch die Art des Tumors beeinflußt wird. Dafür spricht auch, daß akute EV-Virus-Infektionen, ausgewiesen durch IgM-Antikörper, nicht nur bei den lymphatischen Systemerkrankungen auftraten, sondern auch bei 2 Fällen von akuter myeloischer Leukämie und bei einem Brustwandsarkom.

Bei 2 Burkitt-Lymphomen waren dagegen keine EBV-IgM-Antikörper nachweisbar. BANATVALA et al. (4) berichten von 9 Fällen mit ebenfalls negativem Ergebnis, SCHMITZ et al. (112) berichten von einem positiven Befund bei einem Elfjährigen mit BL. Ursache der negativen IgM-Befunde könnte ein Defekt im IgM-Metabolismus sein, wie ihn ZIEGLER et al. (129) in der aktiven Phase der Erkrankung fand. Da dieser Defekt bei Patienten in Remission wieder verschwand, scheint es sich weniger um eine primäre immunologische Störung zu handeln, sondern mit der aktiven Krankheitsphase einherzugehen.

SCHMITZ et al. (112), die außerdem bei 3 Patienten mit M. Hodgkin EBV-IgM-Antikörper nachwiesen, betonen die Bedeutung der frühen Diagnose und der frühzeitigen serologischen Bestimmung für den Erfolg des IgM-Antikörperrnachweises. In vorliegender Untersuchung waren Fälle eingeschlossen, deren Krankheitsbeginn weniger als sechs Monate zurücklag, bei der Mehrzahl war die Krankheitsdauer allerdings nicht erfaßt. Die Ergebnisse bestätigen die Vermutung nicht, daß bei kurzem Krankheitsverlauf eher IgM-Antikörper nachweisbar seien. Eine andere Überlegung widerspricht auch dieser Vermutung: Bis ein solider Tumor eine diagnostizierbare Größe erreicht, ist in jedem Fall eine geraume Zeit verstrichen, wo sich die malignen Zellen bereits vermehrten. Bei der Hypothese, daß das EB-Virus an der Entstehung des malignen Geschehens beteiligt ist, und IgM-Antikörper als Beweis für diese Beteiligung gewertet werden sollen, muß man also voraussetzen, daß die IgM-Antwort sich über Monate bis Jahre erstreckt. Derart verlängerte IgM-Produktion ist nachgewiesen für das Cytomegalievirus bei immunsuppressiv behandelten Patienten nach Nierentransplantationen (95). Ebenso konnte bei subakuter sklerosierender Panenzephalitis Masern-IgM über ein Jahr lang festgestellt werden (16). Auch bei der infektiösen Mononucleose ist ein Fall beschrieben (4), wo über 6 Monate lang kontinuierliche Antigenstimulation die Produktion von IgM gegen EB-Virus anregte.

Das kurzzeitige Auftreten von IgM-Antikörpern, wie es gewöhnlich bei Virusinfektionen der Fall ist, scheint an eine ungestörte Immunabwehr des Wirtsorganismus gebunden zu sein.

Eine andere Hypothese ist in diesem Zusammenhang zu diskutieren: Es wurde die Meinung vertreten, daß IgM-Antikörper typisch für eine Primärinfektion seien, während bei Sekundärinfektionen nur IgG-Antikörper aufträten (110,124). Diese Unterscheidung konnte von unseren Ergebnissen nicht bestätigt werden. Auch bei anderen Viruserkrankungen ist erwiesen, daß IgM nicht nur beim ersten Antigenkontakt produziert werden, wie Untersuchungen an vorgeimpften Masern-Patienten (14,87) und an Herpes-Zoster-Patienten (109) zeigten.

Bei zwei Patienten dieser Untersuchung enthielt die zuerst entnommene Blutprobe schon EBV-IgG-Antikörper, der IgM-Test fiel noch negativ aus. Nach drei Monaten war bei dem einen der IgG-Titer konstant geblieben, beim anderen hatte ein vierfacher Titeranstieg stattgefunden, und bei beiden waren in der zweiten Probe IgM-Antikörper nachweisbar. Hier war offensichtlich eine latente Infektion reaktiviert worden, und die aktive Infektion wurde von IgM-Produktion begleitet.

Auf diese Weise sollen auch die übrigen IgM-positiven Fälle interpretiert werden. Bei denjenigen Patienten allerdings, die zwar IgM-Antikörper aber keine IgG-Antikörper besaßen, muß dies als Zeichen einer Primärinfektion mit EB-Virus im frühesten Stadium gedeutet werden. Leider stand keine zweite Serumprobe zur Verfügung, um den Anstieg der IgG-Antikörper nachzuweisen. Interkurrente IM bei Leukämien wurden referiert (92,118), ebenso sind interkurrente EBV-Infektionen denkbar, die klinisch stumm bleiben und sich nur durch Antikörper-Produktion äußern.

Die Reaktivierung der latenten Infektionen kann durch exogene und endogene Einflüsse ausgelöst werden. Über die Mechanismen der Virus-Latenz und Virus-Aktivierung ist ist sehr

wenig bekannt.

Die Untersuchungen zur normalen Durchseuchung mit IgG-VCA-Antikörpern wurden durchgeführt, um sie mit der Infektionsquote bei malignen Erkrankungen zu vergleichen. Die Durchseuchungskurve (Abb. 2) in Abhängigkeit vom Alter verläuft ähnlich der von HENLE et al. für Kinder aus sozial und wirtschaftlich schwächerem Milieu aufgestellten Kurve (58). 36 % der Kinder von 2 Jahren hatten schon Antikörper gegen EBV erworben, ab 4 Jahren schwankte der Prozentsatz zwischen 55% und 75%, der Durchschnitt über alle Altersklassen lag bei 60%. In Amerika zeigten Untersuchungen an Collegestudenten des ersten Semesters (17 bis 18 Jahre), daß Leute aus diesem sozialen Hintergrund nur in erheblich geringeren Anteil Kontakt mit dem EB-Virus bekommen hatten, nämlich nur in 26% (97). Bei den Erwachsenen fanden wir in 88% VCA-Antikörper, welches auch in Übereinstimmung mit dem europäischen und amerikanischen Schrifttum steht (70,105).

Bei der Berechnung des GMT aus den positiven Seren blieb der Wert bis 5 Jahre unter 1 : 50, zwischen 5 und 13 Jahre bewegte er sich zwischen 1 : 59 und 1 : 66, bei den 14- bis 15-Jährigen wurde 1 : 80 erreicht, für die Erwachsenen lag der Mittelwert aller Altersgruppen bei 1 : 73. Diese Absolutwerte mit denen anderer Autoren zu vergleichen erscheint nicht sinnvoll, nur die relativen Veränderungen von Kontrollgruppe zu Patienten erlauben einen Vergleich. Die Endtiter des gleichen Testserums schwankten bei Vergleichsbestimmungen in verschiedenen Laboratorien erheblich (107,122). Verschiedene Faktoren wurden für diese Schwankungen verantwortlich gemacht: Abweichungen in der Rate der VCA-produzierenden Zellen beim gleichen Zellstamm zu verschiedenen Zeiten (122), unterschiedliche Antihumanglobuline (107) und Unterschiede in der Spezifität der Antigen-Determinanten bei verschiedenen Zellstämmen (27,98).

Die an sich bestechende Idee, die infektiöse Mononucleose könne eine selbstbegrenzte Leukämie sein (17), konnte durch

Studien über das EB-Virus an Leukämiepatienten nicht bestätigt werden. Antikörperpositive Seren waren bei Kindern mit akuter lymphatischer Leukämie in dieser Studie mit 58% genauso häufig wie unter den Kontrollkindern. Es wurde auch schon von einer geringeren Durchseuchungsrate bei leukämischen Kindern berichtet (32). Die Hypothese dazu lautete, daß die EBV-infizierten pathologischen Lymphozyten laufend Virusantigene produzieren und die entstehenden Antikörper verbrauchen. Dieser Erklärungsversuch läßt sich nicht damit vereinbaren, daß wir einen signifikant höheren GMT (1 : 117) fanden als bei den Kontrollen (1 : 60). Eine Erhöhung des GMT um den Faktor 2 ist auch das Ergebnis einer brasilianischen Studie (13). In der akuten lymphatischen Leukämie kann man mit einer normalen Antikörperbildung gegen eine Reihe von Virusantigenen rechnen (89,120). Bei Fällen von infektiöser Mononucleose, die während einer ALL auftraten, konnte man allerdings eine Besonderheit in der Antikörperproduktion beobachten: Das Titermaximum trat erst mehrere Monate nach den klinischen Erscheinungen der IM auf (92,118), während dies gewöhnlich innerhalb des ersten Monats der Fall ist (96). Ob diese Besonderheit möglicherweise mit den insgesamt höheren Titern zusammenhängt, bleibt zunächst noch offen.

Die Ergebnisse beim Neuroblastom ergaben einen normalen Anteil seronegativer Fälle, die antikörperpositiven Seren besaßen aber einen erstaunlich hohen GMT von 1 : 219. Bei nur 17 Fällen insgesamt können daraus keine großen Schlüsse gezogen werden. Eine gewisse Affinität des EB-Virus zum Nervensystem wurde in einzelnen Studien über das Guillain-Barré-Syndrom (41) und Facialis Paresen (42,43) berichtet. Eine Klärung der Zusammenhänge können wohl erst weitere Untersuchungen mit größeren Fallzahlen bringen.

Beim malignen Lymphom fielen die Ergebnisse beim Lymphosarkom der Kinder wesentlich anders aus als beim Lymphom der Erwachsenen. Beim kindlichen Lymphosarkom sind sowohl der GMT mit 1 : 54 als auch der Anteil antikörperpositiver Seren von 58% vollkommen im Normbereich der Altersklasse.

Die 7 Erwachsenen mit dieser Diagnose lagen mit dem GMT von 1 : 195 weit über dem Normalwert von 1 : 73. Einen statistisch signifikant erhöhten GMT erreichten die übrigen Lymphome mit 1 : 247. JOHANSSON et al. (71) fanden ebenfalls eine signifikante Erhöhung des GMT beim Lymphom, besonders in den wenig differenzierten Lymphomen mit schlechter Prognose. Diese Forschergruppe schließt die Möglichkeit nicht aus, daß das EB-Virus bei der Entstehung dieser wenig differenzierten Tumoren eine onkogene oder cocarcinogene Rolle spielen könnte.

Die Ergebnisse, die bei M. Hodgkin gefunden wurden, zeigten signifikant höhere GMT sowohl bei den Erwachsenen (1 : 189) als auch bei den Kindern (1 : 116) im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollgruppen. Die Kovarianzanalyse sicherte in der Kindergruppe die Abweichung im GMT unter Berücksichtigung der altersabhängigen Veränderungen im Titer. Der Anteil antikörperpositiver Seren bei den Kindern überstieg mit 93% die normale Durchseuchungsrate von 60% erheblich. Berücksichtigt man das durchschnittliche Alter der Patienten (10 Jahre), ergibt sich allerdings ein etwas höherer Normalwert: 76% der Kinder von 8 bis 10 Jahren hatten schon mit dem EB-Virus Kontakt. Bei dieser hohen Infektionsrate von 93% muß vielleicht bedacht werden, daß die Antikörperbestimmung nicht stets zum Zeitpunkt der ersten Hospitalisierung erfolgte, und dies eine besondere Exposition zur Infektion darstellte. So fand man bei Kindern in Kinderkrippen und Waisenhäusern, daß 70% der 3- bis 5-Jährigen schon EB-Virus-Antikörper erworben hatten (105). Die Durchseuchungsrate bei erwachsenen M.Hodgkin-Patienten lag mit 98% um 10% höher als in der Kontrollgruppe. HENLE und HENLE (55) berichteten dagegen von einem Prozentsatz seronegativer Patienten, der dem in der Kontrollgruppe entsprach. In derselben Studie ist eine deutliche Überrepräsentation hoher Titer (1 : 160) von 40% gegenüber 14% in der Kontrollgruppe verzeichnet. Beim Vergleich mit unseren Werten taucht wieder das Problem auf, daß die Titerwerte durch verschiedene Labormethoden eine

große Schwankungsbreite haben. Aber mit Hilfe des Titerverlaufs der Kontrollpopulation ist ein Bezugssystem gegeben, das den Vergleich doch ermöglicht. Es ergibt sich, daß die Kontrollwerte aus der Studie von HENLE und HENLE (55) im wesentlichen um eine Titerstufe niedriger liegen als unsere Werte, wie Abb. 9 zeigt.

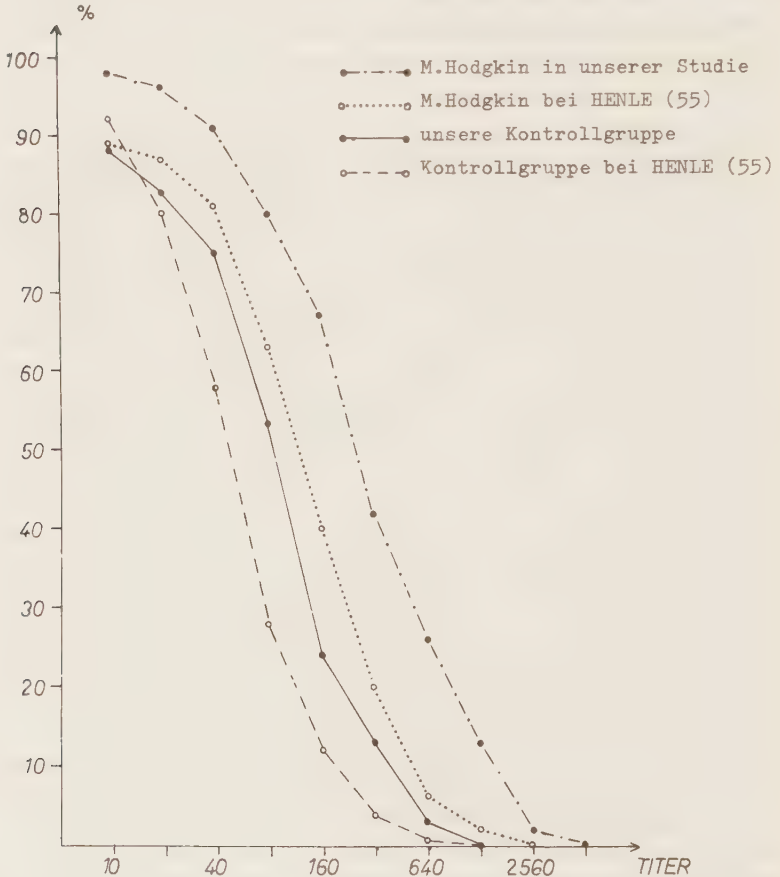


Abb. 9: Darstellung der Verschiebung um eine Titerstufe gegenüber den Titerregressionskurven von Kontrollen und M.Hodgkin bei HENLE und HENLE (55).

Beim Vergleich der Kurven für die M.Hodgkin-Patienten ergibt sich eine analoge Verschiebung um eine Titerstufe (Abb. 9). Es zeigt sich eine gute Übereinstimmung im Prozentsatz erhöhter Titer, den wir also bei 1 : 320 ansetzen müssen. In unserem Krankengut erhielten wir in 42% erhöhte Titer, gegenüber den Kontrollen mit 13% merklich erhöht.

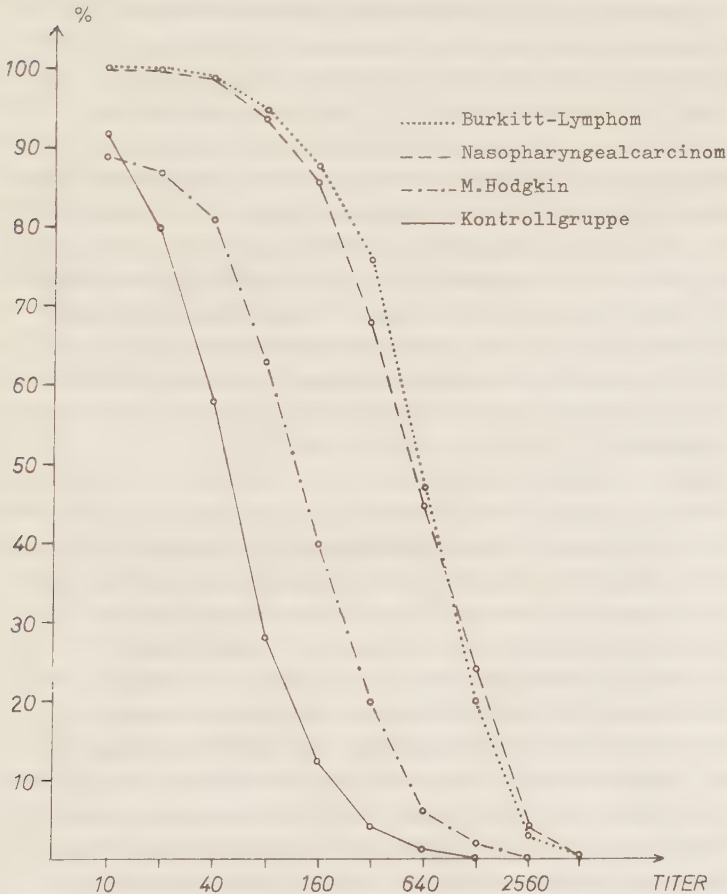


Abb. 10: Titerregressionskurven für Burkitt-Lymphom, Nasopharyngealcarcinom, M. Hodgkin und Kontrollen, dargestellt nach der Häufigkeitsverteilung bei HENLE und HENLE (55).

Bei den kindlichen M. Hodgkin-Patienten fanden wir in 30% Titer $\geq 1 : 320$ gegenüber nur 7% bei den Kontrollkindern.

Um die erhöhte Reaktivität gegen EB-Virus beim M.Hodgkin in Beziehung zu setzen mit den Verhältnissen, wie sie beim BL und NPC angetroffen werden, sind in Abb. 10 die Titer-regressionskurven dieser Krankheitsbilder aufgezeichnet. Diese Summenkurven wurden durch Umformung der Häufigkeitsverteilung gewonnen, wie sie in (55) aufgezeichnet war. Dabei fällt auf, daß beim BL und NPC 100% der Patienten VCA-Antikörper hatten und wesentlich höhere Titerstufen erreichten als bei M. Hodgkin. 88% bzw. 86% der Seren wiesen Antikörpertiter $\geq 1 : 160$ auf. Wenn eine ätiologische Beteiligung des EB-Virus am M.Hodgkin in Betracht gezogen werden soll, so kann das zumindest nur für einen Teil der Fälle diskutiert werden. JOHANSSON et al. (70) fanden bei der lymphozytenarmen sarkomatösen Form eine erheblich gesteigerte serologische Reaktivität gegenüber den anderen Formen, so daß das EB-Virus für diese höchst maligne Form eine ätiologische Bedeutung haben könnte.

Wie kommt es jedoch zu der insgesamt erhöhten Reaktivität bei der Lymphogranulomatose? Klar bewiesen ist die gestörte zelluläre Immunität (2), aber nicht sicher ist, ob sie der Krankheit vorausgeht oder als Folge der Erkrankung aufzufassen ist. Dadurch könnte eine vermehrte Virusmultiplikation zustande kommen bei normaler Antikörperproduktion. Oder aber es tritt eine Hyperreaktion auf normale Mengen von Virusantigen ein als Kompensation des zellulären Immundefekts. Andererseits wird berichtet, daß anergische Patienten keine höheren EBV-Titer aufwiesen als Patienten mit einer positiven Immunreaktion vom Spättyp (63,83). Aus einer holländischen Studie geht dagegen hervor, daß die Patienten mit negativem Hauttest im Vergleich zu den Kontrollen signifikant höhere Titer hatten, während dies bei denen mit positiven Tests nicht der Fall war (81). Die geringen

Fallzahlen in diesen Untersuchungen lassen wohl noch keine endgültige Schlußfolgerung zu.

Desgleichen existieren widersprüchliche Ergebnisse, was erhöhte Antikörpertiter gegen das Cystomegalievirus betrifft. LEVINE et al. (84) fanden normale Spiegel, bei LANGENHUYSEN et al. (81) waren sie erhöht. Dieser Befund würde eine spezifische Rolle des EB-Virus im Krankheitsgeschehen sehr in Zweifel ziehen.

Abschließend wäre eine Untersuchung zu erwähnen, die prüfte, ob durch eine infektiöse Mononucleose das Risiko erhöht wird, einen lymphatischen Tumor zu entwickeln (93). Die Studie ergab, daß eine klinische IM die Entstehung von Malignomen nicht begünstigt. KLEIN (72) nimmt an, daß das EB-Virus normale Lymphozyten in potentiell neoplastische Zellen verwandelt, die nur durch das Immunsystem des Wirts an der Weiterentwicklung zu einem malignen Tumor gehindert werden. Die Cofaktor-Hypothese beinhaltet, daß die neoplastische Entwicklung von genetischen und Umwelt-Faktoren abhängt. Als weitere Möglichkeit wird die Beteiligung noch anderer onkogener Viren angenommen. Die Entdeckung von Nukleinsäuresequenzen eines Mäuseleukämievirus in BL- und NPC-Zellen (80), beim M. Hodgkin (49) und in Leukämiezellen (50) weist in diese Richtung. Als dritte Alternative ist in Betracht zu ziehen, daß es sich beim EB-Virus um einen harmlosen Passagier handelt. Das Malignom entsteht aus anderen unbekannten Gründen, aber die Virus-infizierten neoplastischen Zellen induzieren eine Vermehrung von viralen Antigenen und Antikörpern. Diese Hypothese ist zur Zeit die wahrscheinlichste für die übrigen lymphatischen Malignome außer dem BL und dem NPC. Die Möglichkeit, daß das EB-Virus für histologische Sonderformen des M. Hodgkin oder des malignen Lymphoms doch eine onkogene Rolle spielt, kann aber noch nicht ausgeschlossen werden.

6. Zusammenfassung.

Mit dem indirekten Immunofluoreszenztest wurden Seren von Patienten mit M. Hodgkin, akuter lymphatischer Leukämie, malignen Lymphomen und weiteren malignen Tumoren auf IgM und IgG Antikörper gegen das EB-Virus untersucht. Von 114 Patienten besaßen 17 IgM Antikörper, darunter Patienten mit M. Hodgkin, ALL, AML, Lymphosarkom und Lymphom. Es ergaben sich keine Unterschiede in der Häufigkeit von IgM Antikörpern bei den einzelnen Neoplasmen.

Die IgG Antikörperspiegel von 206 kindlichen und 124 erwachsenen Malignompatienten wurden mit den Ergebnissen einer kindlichen und erwachsenen Kontrollgruppe verglichen.

Die serologische Reaktivität in den Kontrollgruppen entsprach den Ergebnissen früherer Untersuchungen. Die IgG Antikörperbestimmung ergab bei kindlichen M. Hodgkin-Patienten eine erhöhte Durchseuchungsrate (93%), alle anderen Malignome zeigten den gleichen Anteil antikörperpositiver Seren wie die Kontrollgruppe (60%). Die erwachsenen M. Hodgkin-Patienten überstiegen die normale Durchseuchungsrate (88%) um 10%. Signifikante Abweichung vom Wert in den entsprechenden Kontrollgruppen (Kinder 1 : 60, Erwachsene 1 : 73) ergab sich für den GMT der seropositiven Patienten mit M. Hodgkin (Erwachsene 1 : 189, Kinder 1 : 116), Lymphom (Erwachsene 1 : 247), ALL (Kinder 1 : 117) und Neuroblastom (Kinder 1 : 219). Das Lymphosarkom der Kinder zeigte keine erhöhte Reaktivität gegen EB-Virus, auch die Patienten mit AML nicht. Die Ergebnisse dieser Malignome wurden in Titerregressionskurven in Beziehung zueinander und zu den Kontrollgruppen gesetzt.

Die Bedeutung dieser Ergebnisse im Hinblick auf eine onkogene Beteiligung des EB-Virus an den untersuchten Malignomen wird diskutiert.

7. Literaturnachweis.

1. Achong, B.G., M.A. Epstein: A method for preparing micro-samples of suspended cells for light and electron microscopy. *J. Roy. Microscop. Soc.* 84: 107-110, 1965.
2. Aisenberg, A.C.: Manifestations of immunologic unresponsiveness in Hodgkin's disease. *Cancer Res.* 26: 1152-1164, 1966.
3. Armstrong D., G. Henle, W. Henle: Complement-fixation tests with cell lines derived from Burkitt's lymphoma and acute leukemia. *J. Bact.* 91: 1257-1262, 1966.
4. Banatvala J.E., J.M. Best, D.K. Waller: Epstein-Barr virus-specific IgM in infectious mononucleosis, Burkitt's lymphoma, and nasopharyngeal carcinoma. *Lancet* 1: 1205-1208, 1972.
5. Best, J.M., J.E. Banatvale, D. Watson: Serum IgM and IgG responses in postnatally aquired rubella. *Lancet* 2: 65-68, 1969.
6. Biggs, P.M., A.E. Churchill, D.G. Rootes, R.C. Chubb: The etiology of Marek's disease. An oncogenic herpes-type virus. *Perspectives Virol.* 6: 211-237, 1968.
7. Blacklow, N.R., B.K. Watson, G. Miller, B.M. Jacobson: Mononucleosis with heterophil antibodies and EB virus infection. *Am. J. Med.* 51: 549, 1971.
8. Brown, G.C., T.P. O'Leary: Fluorescent antibodies to influenza virus in various immunoglobulin fractions of serum after vaccination or natural infection. *J. Immunol.* 110: 889-896, 1973.
9. Burkitt, D.: A children's cancer dependent on climatic factors. *Nature* 194: 232-234, 1962.
10. Burkitt, D.: Determining the climatic limitations of a children's cancer common in Africa. *Brit. Med. J.* 2: 1019-1028, 1962.
11. Cammoun, M., G. Vogt-Hoerner, N. Monrali: Les tumeurs du nasopharynx en Tunisie. Etude anatomo-clinique de 143 observations. *Tunisie Med.* 49: 131-141, 1971.
12. Carter, R.L.: The pathology of infectious mononucleosis. A. review. In: *Oncogenesis and Herpes Viruses* (Biggs, R.M., G. de Thè, L.N. Payne, eds.), pp. 230-238, Int. Agency for Research on Cancer, Lyon, 1972.

13. Carvalho, R.P.S., A.S. Evans, P.Frost, G.Dalldorf, M.E. Camargo, M. Jamra: EBV infections in Brazil. I. Occurrence in normal persons, in lymphomas, and in leukemias. *Int. J. Cancer* 11: 191-201, 1973.
14. Cherry, J.D., R.D. Feigin, P.G. Shackelford, D.R. Hint-horn, R.R. Schmidt: A clinical and serological study of 103 children with measles vaccine failure. *J. Pediat.* 82: 802-808, 1973.
15. Churchill, A.E., L.N. Payne, R.C. Chubb: Immunisation against Marek's disease using a live attenuated virus. *Nature* 221: 744-747, 1969.
16. Connolly, J.H., M. Haire, D.B.M. Hadden: Measles immuno-globulins in subacute sklerosing panencephalitis. *Brit. Med. J.* 1: 23-25, 1971.
17. Dameshek, W.: Hematology, annual review of medicine 1969, p. 67, Medical World News, Chicago, 1969.
18. Davies, J.N.P.: Hodgkin's disease in childhood. *Natl. Cancer Inst. Monogr.* 36: 45-47, 1973.
19. Diehl, V., G. Henle, W. Henle, G. Kohn: Demonstration of a herpes group virus in cultures of peripheral leukocytes from patients with infectious mononucleosis. *J. Virol.* 2: 663-669, 1968.
20. Deal, D.R., P. Gerber, F.V. Chisari: Heterotransplantation of two human lymphoid cell lines transformed in vitro by Epstein-Barr virus. *J. Natl. Cancer Inst.* 47: 771-780, 1971.
21. Epstein, M.A.: Aspects of the EB virus. *Adv. Cancer Res.* 13: 383-411, 1970.
22. Epstein, M.A., P.B. Herdson: Cellular degeneration asso-ciated with characteristic nuclear fine structural changes in the cells from two cases of Burkitt' s malignant lym-phoma syndrome. *Brit. J. Cancer* 17: 56-58, 1963.
23. Epstein, M.A., Y.M. Barr: Cultivation in vitro of human lymphoblasts from Burkitt' s malignant lymphoma. *Lancet* 1: 252-253, 1963.
24. Epstein, M.A., B.G. Achong, Y.M. Barr: Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt' s lymphoma. *Lancet* 1: 702-703, 1964.
25. Epstein, M.A., B.G. Achong: Fine structural organization of human lymphoblasts of a tissue culture strain (EB 1) from Burkitt's lymphoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 34: 241-253, 1965.

26. Epstein, M.A., G. Henle, B.G. Achong, Y.M. Barr: Morphological and biological studies on a virus in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *J. Exptl. Med.* 121: 761-770, 1965.
27. Evans, A.S.: The spectrum of infections with EB virus. A hypothesis. *J. Inf. Dis.* 124: 330-337, 1971.
28. Evans, A.S., N. Rothfield, J.C. Niedermann: Raised antibody titers to EB virus in systemic lupus erythematoses. *Lancet* 1: 167-168, 1971.
29. Evans, A.S., J.C. Niedermann: Epidemiology of infectious mononucleosis - a review. In: *Oncogenesis and Herpes Viruses*. (Biggs, I.M., G. de Thé, L.N. Payne, eds.), pp. 351-356, Int. Agency for Research on Cancer, Lyon, 1972.
30. Fink, M.A., G.S. King, M. Mizell: Identity of a herpes virus antigen from Burkitt's lymphoma of man and Lucké's adenocarcinoma of frogs. *J. Natl. Cancer Inst.* 41: 1477-1478, 1968.
31. Fraumeni, J.F.: Infectious mononucleosis and acute leukemia. *JAMA* 215: 1159, 1971.
32. Gahrton, G., B. Wahren, D. Killander, G.E. Folex: Epstein-Barr and other herpes virus antibodies in children with acute leukemia. *Int. J. Cancer* 8: 242-249, 1971.
33. Gerber, P.: Activation of EB virus by 5-bromodeoxyuridine in virus free human cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. (Wash.)* 69: 83-85, 1972.
34. Gerber, P., D.R. Deal: Epstein-Barr virus induced viral and soluble complement-fixing antigens in Burkitt lymphoma cell cultures. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 134: 748-751, 1970.
35. Gerber, P., J.H. Walsh, E.N. Rosenblum, R.H. Purell: Association of EB virus infection with the post-perfusion syndrome. *Lancet* 1: 593-596, 1969.
36. Gergely, L., J. Czeglédy, I. Mándi: Über das Fehlen eines erhöhten Epstein-Barr-Virus-Titers bei Sarkoidose. *Klin. Wochenschr.* 51: 884-885, 1973.
37. Goldman, J.M., A.C. Aisenberg: Incidence of antibody to EB virus, herpes simplex, and cytomegalievirus in Hodgkin's disease. *Cancer* 26: 327-331, 1970.
38. Goldman, J.M.: Letter to the editor: Epstein-Barr virus associated antibody patterns. *Int. J. Cancer* 9: 452, 1972.

39. Grace, J.T.: Formal discussion: Hemapoitic cell cultures and associated herpes-type viruses. *Cancer Res.* 27: 2494-2499, 1967.
40. Grace, J.T., J.R. Blakeslee, J. Ralph: Induction of infectious mononucleosis in man by the herpes-type virus in Burkitt lymphoma cells in tissue culture. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 10: 31, 1969.
41. Grose, C., P.M. Feorino: Epstein-Barr virus and Guillain-Barré syndrome. *Lancet* 2: 1285-1287, 1972.
42. Grose, C., P.M. Feorino: L.A. Dye, J. Rand: Bell's palsy and infectious mononucleosis. *Lancet* 2: 231-232, 1973.
43. Grose, C., W. Henle, G. Henle, P.M. Feorino: Primary Epstein-Barr infections in acute neurologic diseases. *New Engl. J. Med.* 292: 392-395, 1975.
44. Gunvén, P., G. Klein, G. Henle, W. Henle, P. Clifford: Antibodies to EBV associated membrane and viral capsid antigens in Burkitt lymphoma patients. *Nature* 228: 1053-1056, 1970.
45. Haire, M., D.S.M. Hadden: Immunoglobulin responses in rubella and its complications. *Brit. Med. J.* 3: 130 - 132, 1970.
46. Hampar, B., J.G. Derge, L.M. Martos, J. L. Walker: Synthesis of Epstein-Barr virus after activation of the viral genome in a virus negative human lymphoblastoid cell line (Raji) made resistant to 5-bromo-deoxyuridine. *Proc. Natl. Acad. Sci. (Wash)* 69: 78-82, 1972.
47. Zur Hausen, H., H. Schulte-Holthausen, G. Klein, W. Henle, G. Henle, P. Clifford, L. Santesson: EBV DNA in biopsies of Burkitt tumours and anaplastic carcinomas of the nasopharynx. *Nature* 228: 1056 1058, 1970.
48. Zur Hausen, H., H. Schulte-Holthausen: Detection of EB viral genomes in human tumor cells by nucleic acid hybridization. In: *Oncogenesis and Herpes Viruses* (Biggs, R.M., G. de Thé, L.N. Payne, eds.), pp. 321-325, Int. Agency for Research on Cancer, Lyon, 1972.
49. Hehlmann. R., D. Kufe, S. Spiegelman : Viral-related RNA in Hodgkin's disease and other human lymphomas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69: 1727, 1972.
50. Hehlmann R., D. Kufe, W. Baxt, S. Spiegelman: 70S-RNS enthaltende Partikel in menschlichen Leukämien. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 79: 402-405, 1973.

51. Henle, G., W. Henle: Immunofluorescence in cells derived from Burkitt's lymphoma. *J. Bact.* 91: 1248-1256, 1966.
52. Henle, G., W. Henle: Studies on cell lines derived from Burkitt's lymphoma. *Trans. N. Y. Acad. Sci* 29: 71-79, 1966.
53. Henle, G., W. Henle: Immunofluorescence, interference, and complement fixation technics in the detection of the herpes-type virus in Burkitt tumour cell lines. *Cancer Res.* 27: 2442-2446, 1967.
54. Henle, G., W. Henle: Epstein-Barr virus and infectious mononucleosis. *New Engl. J. Med.* 228: 263-264, 1973.
55. Henle, W., G. Henle: Epstein-Barr virus related serology in Hodgkin's disease. *Natl. Cancer Inst. Monogr.* 36: 79-84, 1973.
56. Henle, W., V. Diehl, G. Kohn, H. zur Hausen, G. Henle: Herpes-type virus and chromosome marker in normal leukocytes after growth with irradiated Burkitt cells. *Science* 157: 1064-1065, 1967.
57. Henle, G., W. Henle, V. Diehl: Relation of Burkitt's tumour-associated herpes-type virus to infectious mononucleosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 59: 94-101, 1968.
58. Henle, G., W. Henle, P. Clifford, V. Diehl, G.W. Kafuko, B.G. Kirya, G. Klein, R.H. Morrow, G.M.R. Manube, P. Pike, P.M. Tukey, J.L. Ziegler: Antibodies to Epstein-Barr virus in Burkitt's lymphoma and control groups. *J. Natl. Cancer Inst.* 43: 1147-1157, 1969.
59. Henle, W., G. Henle, H.C. Go, P. Burtin, Y. Cachin, P. Clifford, A. de Schryver, G. de Thé, V. Diehl, G. Klein: Antibodies to EB virus in nasopharyngeal carcinoma, other head and neck neoplasmas, and control groups. *J. Natl. Cancer Inst.* 44: 225-231, 1970.
60. Henle, W., G. Henle, B.A. Zajac, G. Pearson, R. Waubke, M. Scriba: Differential reactivity of human sera with early antigens induced by Epstein-Barr virus. *Science* 169: 188-190, 1970.
61. Henle, G., W. Henle, G. Klein, P. Gunven, P. Clifford, R.H. Morrow, J.L. Ziegler: Antibodies to early Epstein-Barr virus-induced antigens in Burkitt's lymphoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 46: 861-871, 1971.
62. Henle, W., H.C. Ho, G. Henle, H.C. Kwan: Antibodies to EBV-related antigens in nasopharyngeal carcinoma. Comparison of active cases and long term survivors. *J. Natl. Cancer Inst.* 51: 361-369, 1973.

63. Hesse, J., E. Andersen, P.H. Levine, P. Ebbesen, P. Holberg, J.I. Reisher: Antibodies to EB virus and cellular immunity in Hodgkin's disease and chronic lymphatic leukemia. *Int. J. Cancer* 11:237-243, 1973.
64. Hinuma, Y., M. Konn, J. Yamaguchi, D.J. Wudarski, J.R. Blakeslee, J.T. Grace: Immunofluorescence and herpes-type virus particles in the P3HR-1 Burkitt lymphoma cell line. *J. Virol.* 1: 1045-1051, 1967.
65. Hirshaut, Y., P. Glade, L. Octavio, B.D. Vier, E. Aimbender, B. Dvorak, L.E. Siltzbach: Sarcoidosis, another disease associated with serologic evidence for herpes-like virus infection. *New Engl. J. Med.* 283: 502-506, 1970.
66. Hirshaut, Y., M.H. Cohen, D.A. Stevens: EBV antibodies in American and African Burkitt lymphoma. *Lancet* 2: 114-116, 1973.
67. Ho, J.H.C.: Nasopharyngeal carcinoma. In: Klein, G., S. Weinhouse, A. Haddow (eds): *Advances in Cancer Research* 15: 57-92, Academic Press, New York and London, 1972.
68. Huang, C.C., J. Minowada, J.S. Horoszewicz: Chromosome lesions induced in a human hemapoitic cell line by infection with Epstein-Barr virus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 137: 183-190, 1971.
69. Huang, D.P., J.H.C. Ho, W. Henle, G. Henle: Demonstration of EBV associated nuclear antigen in NPC cells from fresh biopsies. *Int. J. Cancer* 14: 580-588, 1974.
70. Johansson, B., G. Klein, W. Henle, G. Henle: Epstein-Barr virus-associated antibody patterns in malignant lymphoma and leukemia. I. Hodgkin's disease. *Int. J. Cancer* 6: 450-462, 1970.
71. Johansson, B., G. Klein, W. Henle, G. Henle: Epstein-Barr virus-associated antibody patterns in malignant lymphoma and leukemia. II. Chronic lymphocytic leukemia and lymphocytic lymphoma. *Int. J. Cancer* 8: 475-485, 1971.
72. Klein, G.: The Epstein-Barr virus. In: *The herpesviruses.* (Kaplan, A.S., ed.) pp. 521-555, Academic Press, New York and London, 1973.

73. Klein, G., P. Clifford, E. Klein, R.T. Smith, J. Minowada, K.M. Kourilsky, J.H. Burchenal: Membrane immunofluorescence reactions of Burkitt lymphoma cells from biopsy specimens and tissue cultures. *J. Natl. Cancer Inst.* 39: 1027-1044, 1967.
74. Klein, G., P. Clifford, G. Henle, W. Henle, G. Geering, L.J. Old: EBV-associated serological patterns in a Burkitt lymphoma patient during regression and recurrence. *Int. J. Cancer* 4: 416, 1969.
75. Klein, G., G. Pearson, G. Henle, W. Henle, G. Goldstein, P. Clifford. Relation between Epstein-Barr viral and cell membrane immunofluorescence in Burkitt tumour cells. III. Comparison of blocking of direct membrane immunofluorescence and anti-EBV reactivities of different sera. *J. Exp. Med.* 129: 697-705, 1969.
76. Klein, G., B.C. Giovanella, T. Lindahl, P.J. Fialkow, S. Singh, J. Stehlin: Direct evidence for the presence of EBV-DNA and nuclear antigen in malignant epithelial cells from patients with anaplastic carcinoma of the nasopharynx. *Proc. Natl. Acad. Sci. (Wash.)* 71: 4737-4741, 1974.
77. Klein, G., F. Wiener, L. Zech, H. zur Hausen, B. Reedman: Segregation of the EBV-determined nuclear antigen (EBNA) in somatic cell hybrids derived from the fusion of a mouse fibroblast and a human Burkitt lymphoma line. *Int. J. Cancer* 14: 54-64, 1974.
78. Kohn, G., W.J. Mellmann, D.S. Moorhead, J. Loftus, G. Henle: Involvement of C-group chromosome in five Burkitt lymphoma cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* 38: 209-222, 1967.
79. Kohn, G., V. Diehl, W.J. Mellmann, W. Henle, G. Henle: C-group chromosome marker in long term leukocyte cultures. *J. Natl. Cancer Inst.* 41: 795-804, 1968.
80. Kufe, D., R. Hehlmann, S. Spiegelman: RNA related to that of a murine leukemia virus in Burkitt's tumours and nasopharyngeal carcinomas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70: 5-9, 1973.
81. Langenhuysen, M.M.A.C., T. Cazemier, B. Homven, T.M. Brouwers, M.R. Halie, T.H. The, H.O. Nieweg: Antibodies to EBV, CMV, and Australia antigen in Hodgkin's disease. *Cancer* 34: 262-267, 1974.

82. Levine, P.H.: Relationship of EB virus antibodies to disease state in Hodgkin's disease, chronic lymphocytic leukemia and American Burkitt's lymphoma. In: Onco-genesis and Herpes Viruses. (Biggs, P.M., G. de Thé, L.N. Payne, eds.) pp. 384-389, Int. Agency for Research on Cancer, Lyon, 1972.
83. Levine, P.H., J.I. Reisher: Relationship of EB virus to cell-mediated immunity in patients with Hodgkin's disease. Natl. Cancer Inst. Monogr. 36: 85-87, 1973.
84. Levine, P.H., D.V. Ablashi, C.W. Berard, P.P. Carbone, D.E. Waggoner, L. Malan: Elevated antibody titers to Epstein-Barr virus in Hodgkin's disease. Cancer 27: 416-421, 1971.
85. Levine, P.H., D.A. Merrill, N. Bethlenfalvay, L. Dabich, D.A. Stevens, D.E. Waggoner: A longitudinal comparison of antibodies to the Epstein-Barr virus and clinical parameters in chronic lymphocytic leukemia and chronic myelocytic leukemia. Blood 38: 479-484, 1971.
86. Lindahl, T., G. Klein, B. Reedman, B. Johansson, S. Singh: Relationship between EBV-DNA and the EBV-determined nuclear antigen (EBNA) in BL biopsies and other lymphoproliferative malignancies. Int. J. Cancer 13: 764-772, 1974.
87. Linnemann, G.C., M.E. Hegg, T.C. Rotte, J.P. Phair, G.M. Schiff: Measles IgM response during reinfection of previously vaccinated children. J. Pediat. 82: 798-801, 1973.
88. Lukes, R. J., B.H. Tindle, J.W. Parker: Reed-Sternberg-like cells in infectious mononucleosis. Lancet 2: 1003-1004, 1969.
89. McBeath, S., D.G. Harnden: Complement fixing antiviral antibodies in patients with leukemia. Blood 32: 231-235, 1968.
90. MacMahon, B.: Epidemiology of Hodgkin's disease. Cancer Res. 26: 1189-1200, 1966.
91. Meléndez, L., R.D. Hunt, M.D. Daniel, B.J. Blake, F.G. Garcia: Acute lymphatic leukemia in owl monkeys inoculated with herpesvirus Saimiri. Science 171: 1161-1163, 1971.
92. Miller, G., T. Shope, L. Heston, R. O'Brien, A. Schwartz, H. Pearson: Prospective study of Epstein-Barr virus infections in acute lymphoblastic leukemia of childhood. J. Pediat. 80: 932-937, 1972.

93. Miller, R.W., G.B. Beebe: Infectious mononucleosis and the empirical risk of cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 50: 53-62, 1973.
94. Mizell, M., T. Toplin, J.J. Isaacs: Tumour induction in developing frog kidneys by a zonal centrifuge purified fraction of the frog herpes-type virus. *Science* 165: 1134-1137, 1969.
95. Nagington, J.: Cytomegalievirus antibody production in renal transplant patients. *J. Hyg., Camb.* 69: 645-660, 1971.
96. Niedermann, J.C., R.W. McCollum, G. Henle, W. Henle: Infectious mononucleosis clinical manifestations in relation to EB virus antibodies. *JAMA* 203: 205-209, 1968.
97. Niedermann, J.C., A.S. Evans, L. Subrahmanyam, R.W. McCollum: Prevalence, incidence, and persistence of EB virus antibody in young adults. *New Engl. J. Med.* 282: 361-365, 1970.
98. Nikoskelainen, J., J. Leikola, E. Klemola: IgM antibodies specific for Epstein-Barr virus in infectious mononucleosis without heterophil antibodies. *Brit. Med. J.* 4: 72-75, 1974.
99. Nonoyama, M., T.S. Pagano: Detection of EB viral genome in non-productive cells. *Nature New Biol.* 233: 103-106, 1971.
100. Obrecht, P., H. Schmitz, M. Westerhausen: Untersuchungen über Antikörper gegen EBV und CMV bei Hämoblastosen und malignen Tumoren. *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* 77: 754-760, 1971.
101. O'Connor, G.T.: Persistent immunologic stimulation as a factor in oncogenesis with a special reference to Burkitt's tumour. *Am. J. Med.* 48: 279-285, 1970.
102. O'Connor, G.T., A.S. Rabson: Herpes-like particles in an American lymphoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 35: 899-903, 1965.
103. Old, L.J., E.A. Boyse, H.F. Oettgen, E. de Harven, G. Geering, B. Williamson, P. Clifford: Precipitating antibody in human serum to an antigen present in cultured Burkitt's lymphoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. (Wash.)* 56: 1699-1704, 1966.

104. Old, L.J., E.A. Boyse, G. Geering, H.F. Oettgen: Serologic approaches to the study of cancer in animals and in man. *Cancer Res.* 28: 1288-1299, 1968.
105. Pareira, M.S., J.M. Blake, A.D. Macrae: EBV antibody at different ages. *Brit. Med. J.* 4: 526-527, 1969.
106. Pope, J.H., M.K. Horne, W. Scott: Transformation of foetal human leukocytes in vitro by filtrates of a human leukaemic cell line containing herpes-like virus. *Int. J. Cancer* 3: 857-866, 1968.
107. Porter, D.D., I. Wimberly, M. Benyesh-Melnick: Prevalence of antibodies to EB virus and other herpes viruses. *JAMA* 208: 1675-1679, 1969.
108. Rabson, A.S., G.T. O'Connor, S. Baron, J.J. Whang, F.Y. Legellais: Morphologic, cytogenetic and virologic studies in vitro of a malignant lymphoma from an African child. *Int. J. Cancer* 1: 89-106, 1966.
109. Ross, C.A.C., R. McDaid: Specific IgM antibody in serum of patients with herpes zoster infections. *Brit. Med. J.* 4: 522-523, 1972.
110. Schluderberg, A.: Immune globulins in human viral infections. *Nature* 205: 1232, 1965.
111. Schmitz, H., M. Scherer: IgM antibodies to EB virus in infectious mononucleosis. *Arch. Ges. Virusforsch.* 37: 332-339, 1972.
112. Schmitz, H., D. Volz, C. Krainick-Riechert, M. Scherer: Acute Epstein-Barr virus infections in children. *Med. Microbiol. Immunol.* 158: 58-63, 1972.
113. Schneweis, K.E., M.H. Wolif, G. Marklein, G. Stifter: Untersuchungen mit der IgM Fraktion von Patienten-Seren bei verschiedenen Viruserkrankungen. *Z. Immun. Forsch.* 147: 236-249, 1974.
114. de Schryver, A., G. Klein, W. Henle, G. Henle: EB virus-associated antibodies in Caucasian patients with carcinoma of the nasopharynx and in long-term survivors after treatment. *Int. J. Cancer* 13: 319-325, 1974.
115. Silva, L.M., M.S. Kahn, G. Kampfner, J. O'H. Tobin, R. Gillet, C.A. Morris: The post mortem diagnosis of influenzal infection by fluorescent IgG, IgA, and IgM antibody studies on necropsy blood. *J. Hyg.* 71: 107-112, 1973.

116. Southam, C.M., J.H. Burchenal, B. Clarkson, A. Tanzi, R. Mackey, V. McComb: Heterotransplantation of human cell lines from Burkitt's tumours and acute leukemia into newborn rats. *Cancer* 23: 281-299, 1969.
117. Steffen, C.: Allgemeine und experimentelle Immunologie und Immunpathologie. Thieme-Verl., Stuttgart, S. 574-580, 1968.
118. Stevens, D.A., P.H. Levine, S.K. Lee, M.J. Souley, D.E. Waggoner: Concurrent infectious mononucleosis and acute leukemia. *Am. J. Med.* 50: 208-217, 1971.
119. Stewart, S., E. Lovelace, J.J. Whang, V.A. Ngu: Burkitt tumour: Tissue culture, cytogenetic, and virus studies. *J. Natl. Cancer Inst.* 34: 319-327, 1965.
120. Sutton, R.N.D., S.D. Marston, H.J.M. Pullen, C.W. Darby, D.I.K. Evans, R.T.D. Emond: Antibodies to Epstein-Barr and other viruses in children with acute lymphoblastic leukemia. *Arch. Dis. Child.* 49: 540-543, 1974.
121. Ten Seldam, R.E.J., R. Cooke, L. Atkinson: Childhood lymphoma in the territories of Papua and New Guinea. *Cancer (Philad.)* 19: 437, 1966.
122. de Th  , G., A. Geser: NPC, recent studies and an outlook for viral etiology. *Cancer Res.* 34: 1196-1203, 1974.
123. Tischendorf, P., G.J. Shramek, R.C. Balagtas, F. Deinhardt, W.H. Knospe, G.R. Noble, J.E. Maynard: Development and persistence of immunity to EBV in man. *J. Inf. Dis.* 122: 401-409, 1970.
124. Uhr, J.W., M.S. Finkelstein: Kinetics of antibody formation. *Progr. in Allergy* 10: 37-83, 1967.
125. Vecikari, T., A. Vaheri: Rubella: A method for rapid diagnosis of a recent infection by demonstration of the IgM antibodies. *Brit. Med. J.* 1: 221-223, 1968.
126. Wahren, B., E. Cartens, A. Espmark, H. Lundback, S. L  fgren, E. Madar, G. Henle, W. Henle: Antibodies to various herpes viruses in sera from patients with sarcoidosis. *J. Natl. Cancer Inst.* 47: 347, 1971.
127. Wolf, H., H. zur Hausen, V. Becker: Epstein-Barr viral genomes in epithelial NPC cells. *Nature New Biol.* 244: 245-247, 1973.

128. Wright, D.H.: The epidemiology of Burkitt's tumour.
Cancer Res. 27: 2424-2438, 1967.
129. Ziegler, J.L., M.H. Cohen, R.H. Morrow, S.K. Kyalwazi,
P.D. Carbone: Immunologic studies in Burkitt's lym-
phoma. Cancer N.Y. 25: 734-739, 1970.

Meinem Doktorvater, Herrn
Prof. Dr. Otmar Goetz, danke
ich für die Überlassung des
Themas sowie für seine ver-
ständnisvolle Beratung und
Unterstützung im Verlaufe
der Arbeit.

L E B E N S L A U F

Am 30.10.1949 wurde ich als zweites Kind des Bibliothekars Gerhard Seidel und seiner Ehefrau Elisabeth Seidel, geb. Heupt, in Ingelheim am Rhein geboren.

Von 1950 bis 1960 besuchte ich die Volksschule in Ingelheim. 1960 wechselte ich auf das mathematisch-naturwissenschaftliche Sebastian Münster-Gymnasium, Ingelheim, über und bestand im Juni 1968 das Abitur. Ich begann im Wintersemester 1968/69 an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz Mathematik und Physik zu studieren. Nach vier Semestern legte ich im Oktober 1970 die Vordiplomprüfung in Mathematik mit gutem Erfolg ab. Für das Sommersemester 1971 bewarb ich mich an der Ludwig Maximilians-Universität in München für das Medizinstudium. Am 11.04.1973 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und am 21.06.1977 das Staatsexamen in Medizin. Zur Zeit bin ich als Medizinalassistentin im Kreiskrankenhaus Fürstfeldbruck tätig.

